UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1960-1961 N° 799

Contribution à l'Étude Clinique et Expérimentale des Transaminases et Deshydrogénases Sériques et Tissulaires

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 28 juin 1961
devant la
FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

par

Maurice KECKHUT
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse / Juges :

MM. Paul CORDIER, Professeur, Président
Jean-Pierre EBEL, Professeur
Julien WARTER, Professeur
Pierre METAIS, chargé des fonctions de Maître de conférences

1961

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550001_0045

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1960-1961 N° 799

Contribution à l'Étude Clinique et Expérimentale des Transaminases et Deshydrogénases Sériques et Tissulaires

THÈSE

présentée et soutenue publiquement
devant la
FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

par

Maurice KECKHUT
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse — Juges

MM. Paul CORDIER, Professeur, Président
Jean-Pierre EBEL, Professeur
Julien WARTER, Professeur
Pierre METAIS, chargé des fonctions de Maître de conférences

1961

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

UNIVERSITE DE STRASBOURG
FACULTE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION :

MM. DUQUENOIS, Doyen
GAZET DU CHATELIER, Assesseur
CLADY, Secrétaire

DOYEN HONORAIRE :

M. VOLMAR

PROFESSEURS :

MM.	LAPP	Physique
	SARTORY	Bactériologie
	CORDIER	Pharmacie chimique
	DUQUENOIS	Matière médicale
	JAEGER	Botanique
	GAZET DU CHATELIER	Pharmacie galénique
	HASSELMANN	Chimie analytique
	SCHREIBER	Chimie organique
	EBEL	Chimie biologique

PROFESSEUR HONORAIRE:

M. VOLMAR

MAITRES DE CONFERENCES

MM.	LEDOUX	Sciences naturelles
	METAIS (chargé des fonctions)	Sciences appliquées

MAITRE DE CONFERENCES HONORAIRE :
M. COLLARD

COURS COMPLEMENTAIRES:

MM.	LAPP	Acoustique
	SARTORY	Cryptogamie
	CORDIER	Chimie biologique
	DUQUENOIS	Hydrologie
	GAZET DU CHATELIER	Pharmacodynamie
	HASSELMANN	Chimie minérale

MM. LAVIGNE	Législation et Déontologie pharmaceutiques
SCHREIBER	Chimie générale
MALGRAS	Sérologie
LAUSTRIAT	Minéralogie et Eléments de mathématiques
C. MEYER	Comptabilité et fiscalité pharmaceutiques

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES:

M. MALGRAS	Bactériologie
Mme KRISTENSEN	Chimie pharmaceutique
MM. LAUSTRIAT	Chimie et Physique
MATHIS	Chimie
CARBIENER	Histoire naturelle
STAHL	Bactériologie et Parasitologie

A Monsieur le Professeur J. W A R T E R

Directeur de la Clinique Médicale A

des Hospices Civils de Strasbourg

En témoignage de notre grande admiration et de notre sincère reconnaissance.

A mes parents.

INTRODUCTION

On sait aujourd'hui que tous les phénomènes de la vie cellulaire, de la dégradation jusqu'à la biosynthèse endothermique, sont conditionnés par l'intervention de biocatalyseurs : les enzymes.

Ces transformations se font suivant des réactions chimiques connues et souvent simples, qui n'évolueraient en absence de ces biocatalyseurs qu'à des vitesses extrêmement réduites ou en présence de sources d'énergie considérables.

Les enzymes présentent donc le double avantage d'accélérer les réactions vitales et d'éviter des déperditions énergétiques exagérées.

L'homme, dans bien des circonstances, a cherché à exploiter ces avantages. Depuis les époques les plus anciennes, il a utilisé, d'abord empiriquement, puis scientifiquement, des diastases dans les domaines les plus variés (alimentation, textiles ...) ; couramment la défaillance de certaines fonctions digestives est traitée par l'administration de préparations enzymatiques.

Enfin, tout récemment, la détermination de l'activité fermentaire a pris une importance considérable en biochimie clinique. On s'est d'abord intéressé à des enzymes comme les phosphatases, les estérases, l'amylase, les peptidases.

Les transaminases glutamique-oxaloacétique et glutamique-pyruvique et les déshydrogénases lactique et malique sont utilisées en biochimie clinique depuis quelques années seulement. Ce sont ces diastases que nous nous proposons d'étudier

Dans une première partie, après avoir défini ces enzymes, nous décrirons leurs propriétés physico-chimiques, ainsi que les méthodes de détermination de leur activité. Parmi celles-ci nous avons choisi la méthode spectrophotométrique.

La deuxième partie sera consacrée à l'étude des variations pathologiques de ces ferments sériques humains et particulièrement dans les affections cardio-vasculaires et hépato-biliaires.

Enfin les résultats obtenus chez le malade nous ont conduit à étudier les variations expérimentales de la teneur en enzymes des tissus (foie, coeur). Pour cela, nous avons réalisé des hépatites chez le rat par inhalation de tetrachlorure de carbone et comparé les modifications tissulaires et sériques à celles observées au cours d'un trouble alimentaire : le jeûne protéique et le jeûne total.

Avant de présenter notre travail, nous tenons à remercier ceux qui ont aidé à sa réalisation.

Monsieur le Professeur WARTER qui. en nous accueillant dans son laboratoire, nous a permis de travailler dans les meilleures conditions. Grâce à ses conseils, nous avons pu mener à bien cette thèse. Que cet ouvrage, dont nous prions d'excuser les imperfections, soit le témoignage de notre grande admiration et de notre sincère reconnaissance.

Notre reconnaissance va tout particulièrement à Monsieur METAIS qui, avec Monsieur le Professeur WARTER, a inspiré cette thèse. Jour après jour, il a suivi et guidé notre travail. Nous faisant profiter de sa grande expérience et de ses conseils, il nous a appris à travailler avec méthode. Il a orienté la marche de ces recherches et a puissamment contribué à la présentation de leurs résultats. Qu'il soit remercié ici pour la somme de travail et d'efforts qu'il nous a consacrée.

Nos sentiments respectueux vont à Monsieur le Professeur CORDIER qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre thèse.

Nous ne saurons oublier tous nos amis de la clinique Médicale A, en particulier Monsieur SCHIRARDIN, qui nous ont témoigné leur cordialité durant notre séjour au laboratoire.

PREMIERE PARTIE

BIOCHIMIE DES TRANSAMINASES ET DESHYDROGENASES

Les transaminases et déshydrogénases sont des enzymes indispensables à l'organisme. Après les avoir décrites, nous étudierons brièvement les différentes méthodes de détermination de leur activité. Nous nous étendrons particulièrement sur les techniques utilisées pour nos propres évaluations.

A. - LES TRANSAMINASES

Les transaminases, encore appelées aminophérases, sont des diastases qui catalysent des réactions chimiques dites de transamination, au cours desquelles il y a échange de la fonction aminée d'un α-amino-acide contre la fonction cétone d'un α-céto-acide, En conséquence, se trouvent formés un nouvel α-amino-acide, dérivé de l'α-céto-acide primitif et un nouvel α-céto-acide provenant de l'α-amino-acide pré-existant (21) :

acide α-aminé	acide α-cétonique	nouvel acide α-cétonique	nouvel acide α-aminé

Ces ferments présenteront une certaine spécificité de substrat, mais utilisent tous un coenzyme identique : le phosphate de pyridoxal.

Très répandues dans les tissus, elles y joueront un rôle biochimique primordial, notamment les transaminases glutamique-oxaloacétique et glutamique-pyruvique.

Historique.

C'est en 1927 que NEEDHAM (109,121) travaillant sur le muscle du bréchet du pigeon, constate que dans ce tissu la teneur en certains acides aminés semble diminuer alors qu'au même moment s'élève celle en diacides non azotés. Comme, d'autre part, il ne note pas le moindre enrichissement en ammoniaque, urée, azote aminé ou purique et que, de plus, le taux total en azote aminé reste inchangé, cet auteur admet un transfert des groupements aminés, probablement sous l'influence d'enzymes.

Dix ans plus tard, BRAUNSTEIN et KRITZMANN (19,121), reprenant ces premières expériences, confirment l'hypothèse de cette "transamination enzymatique". Ils montrent que le phénomène exige la présence d'acides dicarboxyliques α-aminé et α-cétonique et prétendent qu'il semble encore possible avec tout acide monocarboxylique α-aminé ou α-cétonique en présence d'un diacide.

Après qu'en 1938 KRITZMANN ait constaté ce même phénomène dans le muscle cardiaque du porc (121), COHEN et HEKHUIS (31, 32) en 1940, confirment la présence des transaminases dans les différents organes utilisés jusque là, mais apportent quelques restrictions quant à l'universalité de la réaction. D'après eux, la transamination ne se ferait pas avec n'importe quel acide α-aminé ou α-cétonique monocarboxylique; les meilleurs substrats seraient les couples acide-glutamique - acide oxaloacétique et acide glutamique - acide pyruvique.

En 1945, GREEN et ses collaborateurs (63), isolent le coenzyme des transaminases du muscle cardiaque : le phosphate de pyridoxal, dérivé de la vitamine B 6.

CAMMARATA et COHEN (26,27), reprenant d'une part les travaux de BRAUNSTEIN et KRITZMANN, de l'autre ceux de COHEN et HEKHUIS, admettent la possibilité de transamination avec de nombreux acides monocarboxyliques.

Enfin, 1957 voit ARMENTROUT (8) découvrir chez Torula Utilis une transaminase nouvelle à substrat préférentiel comportant

outre un α-céto-acide, l'adénine qui est une base purique. Cette transaminase paraîtrait spécifique de l'adénine puisque les autres bases puriques et pyrimidiques ne donnent pas lieu à la réaction. Une nouvelle fois, le coenzyme est le phosphate de pyridoxal; un oligo-élément interviendrait aussi : le cuivre sous forme cuivrique.

Depuis 1954 et grâce aux travaux, entre autres, de WROBLEWSKI, KARMEN et LA DUE (88,89,168), de SHABETAI (139), d'AGRESS (1), de NYDICK (111), de MERRILL (101,102), de CHINSKY (29), de LOSNER (94), KATTUS (82), BANG et IVERSEN (73), de PAGET (117), BOIVIN, FAUVERT et ses collaborateurs (17), BISERTE (16), de FERRARI (53), de DE VINCENTIIS et TERAMO (50), l'étude des transaminases est passée du domaine théorique et général à l'application clinique. Nous étudierons dans les chapitres suivants les différents travaux que ces enzymes ont suscités dans ce domaine.

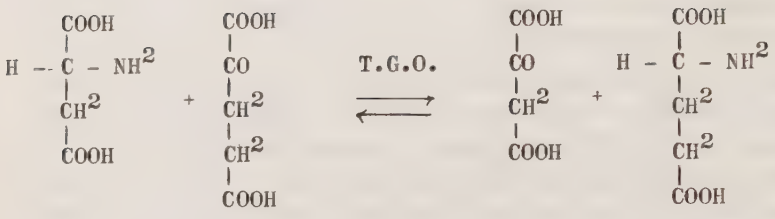
Pluralité des transaminases.

Les relations d'activité transaminasique d'un tissu vis-à-vis de substrats déterminés ont conduit à la nécessité d'envisager une multiplicité des enzymes qu'on distinguera les uns des autres en accolant le nom de leur substrat préférentiel au mot transaminase.

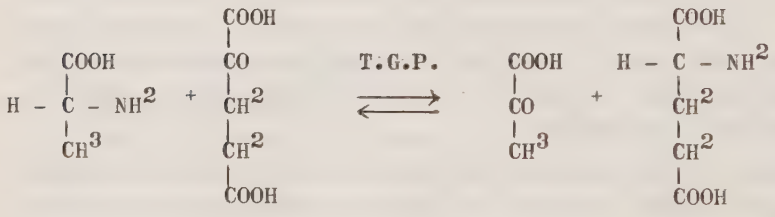
Ainsi les transaminases glutamique-oxaloacétique et glutamique-pyruvique, qu'on devrait plutôt appeler, la première transaminase glutamique-aspartique, la seconde glutamique-alanine, catalysent le transfert de la copule -NH2 de l'acide aspartique ou de l'alanine sur l'acide α-cétoglutarique (Figure 1), (voir page 14).

Dans le même groupe, utilisant l'acide α-cétoglutarique, comme substrat cétonique, se classent les transaminases l - cystéinesulfinique ou sulfonique - α-cétoglutarique que DARLING (39,71) en 1952 a pu mettre en évidence dans le coeur de boeuf et chez Proteus Vulgaris. Ces enzymes auraient une grande importance dans le cycle de désulfuration de la l-cystéine qui aboutit à la l-alanine. En effet, le premier pas de la dégradation serait une désamination avec formation d'acides β-sulfinyl ou β-sulfonyl-pyruvique (71).

FIGURE 1



acide aspartique (α-aminé) + acide α-cétoglutarique (α-cétonique) ⇌ acide oxalo-acétique (α-cétonique) + acide glutamique (α-aminé)



alanine (α-aminé) + acide α-cétoglutarique (α-cétonique) ⇌ acide pyruvique (α-cétonique) + acide glutamique (α-aminé)

D'autres encore transfèreront le groupement aminé de la l-tyrosine, de la l-phénylalanine, de la l-leucine ou l-iso - leucine sur ce même acide α-cétoglutarique.

Extraite de l'Escherichia Coli par FELDMANN et GUNSALUS, (52), semblant en outre exister dans les tissus aminaux et notamment le foie, la transaminase l-tyrosine - α-cétogluta - rique catalyserait la dégradation oxydative de la l-tyrosine:

		acide		acide		acide
l-tyrosine	+	α-cétoglutarique	$\rightleftharpoons$	l-gluta- mique	+	p. oxyphényl- pyruvique

Découverte par les mêmes auteurs chez la même bactérie, la transaminase l-phénylalanine-α-cétoglutarique est à la ba - se de la transformation de ce substrat en acide l-glutamique et acide phénylpyruvique (52).

Durant ces dernières années furent mises en évidence enco - re d'autres transaminases dont l'action porte cette fois sur le groupement aminé terminal d'un amino-acide basique : ain- si les transaminases l-ornithine-α-cétoglutarique ou γ-amino- butyrique-α-cétoglutarique.

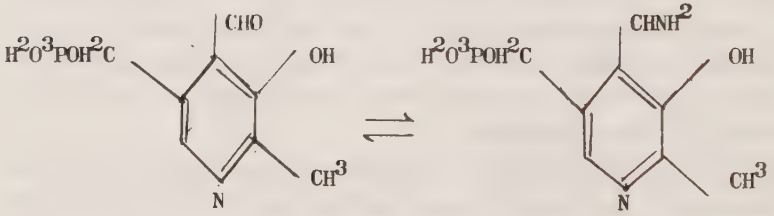
Quant à la transaminase aspartique-pyruvique, envisagée par KRITZMANN dès 1939, O'KANE et GUNSALUS (112), sont de l' avis d'une association des deux transaminases glutamique- aspartique et glutamique-alanine, agissant en présence d'aci- des glutamique, aspartique et pyruvique. Toutefois, KRITZ- MANN et SAMARINA (86) ont réussi à isoler du foie de pigeon et de poule un enzyme n'utilisant que les acides aspartique et pyruvique. Il peut donc prendre rang parmi les enzymes spécifiques.

Le coenzyme des transaminases : le phosphate de pyridoxal.

Toutes les transaminases connues présentent un co-enzyme unique : le phosphate de pyridoxal.

Ce sont SCHLENK et SNELL (134) qui remarquent les premiers que des tissus de rats, recevant de la vitamine B_6 dans leur alimentation, présentaient une activité transaminasique net- tement supérieure à ceux qui en étaient dépourvus. LICHSTEIN et ses collaborateurs (93) font une constatation analogue;ils mettent en évidence chez Streptococcus Faecalis R l'existence

de souches dépourvues de toute activité transaminasique lorsqu'elles étaient cultivées sur milieu sans pyridoxine; mais, ajoute-t-on du phosphate de pyridoxal, elles acquièrent cette activité. A peu près au même moment, GREEN et ses collaborateurs (63) parlent d'un facteur thermostable présent dans leurs préparations de transaminase et ayant des propriétés analogues au phosphate de pyridoxal; UMBREIT et ses collaborateurs (70) en réalisent l'isolement. A la suite de l'observation de SNELL qui montre qu'en chauffant du phosphate de pyridoxal et de l'acide glutamique, se forment de l' acide α-cétoglutarique et du phosphate de pyridoxamine, SCHLENK et FISCHER (133) admettent que ce phosphate de pyridoxal est le transporteur de la copule NH^2; néanmoins, cette supposition est encore aujourd'hui discutée;

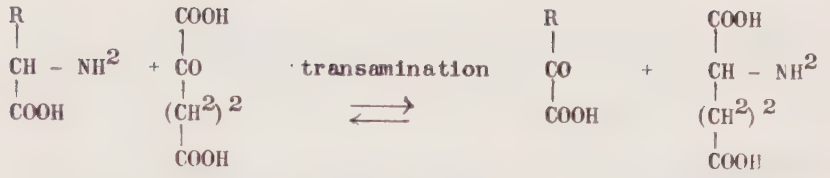


phosphate de pyridoxal

phosphate de pyridoxamine

Rôle biochimique des transaminases.

La transamination est un processus très général de dégradation et de synthèse des amino-acides. Transfert réversible du groupement NH^2 d'un acide aminé quelconque à un acide cétonique, c'est un phénomène permettant à tous les organes d'équilibrer à tout instant leurs concentrations en différents acides aminés et cétoniques suivant leurs besoins spécifiques. C'est l'acide α-cétoglutarique qui, maillon important du cycle citrique de Krebs, sera le principal pivot de cette réaction en donnant de l'acide glutamique :



acide aminé	acide α-cétoglutarique		acide cétonique	acide glutamique

L'acide glutamique, comme l'a montré VON EULER, est en effet le seul de tous les acides aminés à trouver en abondance dans les tissus une diastase appropriée, susceptible de le désaminer : la désydrogénase l-glutamique. Cet enzyme qui utilise comme coenzyme la codéshydrase I, régénère l'acide α-cétoglutarique qui pourra ainsi reprendre sa place dans le circuit. Les réactions suivantes traduisent les phénomènes biochimiques qui caractérisent essentiellement la transamination et la régénération de l'acide α-cétoglutarique :

Acide aminé	+	Coenzyme de transaminase (Phosphate de Pyridoxal)	⇌	Acide cétonique	+	Phosphate de Pyridoxamine

Phosphate de Pyridoxamine	+	acide α-cétoglutarique	⇌	Phosphate de Pyridoxal	+	acide glutamique

Acide glutamique	+	Codéhydrase I (DPN)	⇌	Acide iminoglutarique	+	$DPNH^2$

Enfin, l'acide iminoglutarique s'hydrolyse facilement en donnant de l'acide α-cétoglutarique :

Acide iminoglutarique	+	H^2O	⟶	NH^3	+	Acide α-cétoglutarique

Beaucoup plus obscur, mais non moins négligeable, serait le rôle des transaminases dans le métabolisme des bases puriques et pyrimidiques.

Répartition.

Très répandues dans la nature, les aminophérases existent chez les bactéries et dans le règne animal. Chez l'homme et les mammifères les transaminases glutamique-oxaloacétique (TGO) et glutamique-pyruvique (TGP) semblent à l'heure actuelle les plus importantes. Ce sont WROBLEWSKI et LA DUE (tableau I) qui ont établi la hiérarchie de leur distribution dans les tissus et humeurs. Elle est sensiblement la même, quelle que soit l'espèce considérée (174).

TABLEAU I

Tissus ou humeurs	Unités/g . ou ml. de tissu frais	
	T.G.O.	T.G.P.
Coeur	156 000	7 100
Foie	142 000	44 000
Muscle du squelette	99 000	4 800
Rein	91 000	19 000
Pancréas	28 000	2 000
Rate	14 000	1 200
Poumon	10 000	700
Sang total	240	200
Sérum	28	25

Alors que les foie, rein et coeur en sont très riches, les tissus glandulaires comme les tissus embryonnaires et néoplasiques en sont en général très pauvres (33,121,154). Pour les tissus animaux, il a été remarqué que, plus un tissu croît rapidement, plus sa richesse en transaminase glutamique oxaloacétique est faible. Ce résultat risque de surprendre, étant donné le rôle majeur accordé à la transaminase glutamique oxaloacétique dans le métabolisme des amino acides. On a tenté de l'expliquer en prétendant que la transamination est moins liée à l'édification de nouveaux tissus qu'à l'ac-

tivité physiologique propre d'un tissu donné. On comprendrait alors pourquoi chez l'embryon, où la prolifération précède la différenciation, on ne décèle que tardivement la présence des transaminases dans certains organes.

Comparés au sérum normal, les globules rouges en contiennent des quantités importantes (10 à 20 fois plus). De même, la bile en titrerait de très fortes quantités et pourrait représenter l'émonctoire possible de ces enzymes. Par contre, l'urine n'en renferme que très peu. Enfin, le liquide céphalo-rachidien, comme la salive, présentent des activités enzymatiques voisines de celles du sérum, l'une un peu plus faible, l'autre un peu plus élevée.

Lors d'une nécrose (cytolyse) au niveau des cellules riches en transaminases, les ferments quittent le cytoplasme et passent dans le plasma sanguin en y élevant la teneur. Cet enrichissement plasmatique sera en rapport avec l'équipement diastasique de l'organe lésé et, pour un tissu déterminé, avec l'étendue de la lésion. C'est là tout l'intérêt séméiologique du dosage sérique de ces enzymes.

B. - LES DESHYDROGENASES

Catalyseurs de phénomènes de transfert d'hydrogène, les déshydrogénases ou encore hydrogène-transférases, sont à la base de réactions d'oxydo-réduction. Elles utilisent comme coferment un pyridine-nucléotide sur lequel elles transfèrent l'hydrogène. Soit diphosphopyridine-, soit triphosphopyridine-nucléotide, ces coenzymes sont constitués, le premier par :

- une molécule d'amide nicotinique
- une molécule d'adénine
- deux molécules de Ribose
- deux molécules d'acide phosphorique.

(figure 2). La structure du second sera très voisine et ne diffère que par la présence de trois molécules d'acide phosphorique.

Mécanisme de la déshydrogénation.

Au cours des oxydations, ces coferments jouent le rôle d'accepteur d'hydrogène. Au contraire, sous forme réduite, ils sont des fournisseurs de celui-ci. Ce sera le noyau pyridinique qui sera au centre de la réaction. Ce phénomène a été étudié par KARRER (80), WARBURG (157), COLOWICK, VENNESLAND et WESTHEIMER (152), qui ont noté, durant la réduction, la greffe d'un hydrogène sur ce noyau. Cette fixation aurait lieu en position 4 en entraînerait une réorganisation de l'ensemble avec retour de l'azote tetracoordiné au stade trivalent. Quant au second, il serait capté par un oxygène de l'acide phosphorique (figure 3).

Rôle biologique des déshydrogénases.

Dans la cellule vivante, nombreuses sont les réactions où les pyridine-nucléotides figurent comme accepteur ou donateur d'hydrogène et ceci en milieu aérobie ou anaérobie. De multiples enzymes président à ces transferts qui pourront se schématiser ainsi, en tenant compte de la tétracoordination de l'azote pyridinique de la forme oxydée et de l'état d'ionisation du milieu :

D.P.N. DIPHOSPHOPYRIDINE-NUCLEOTIDE

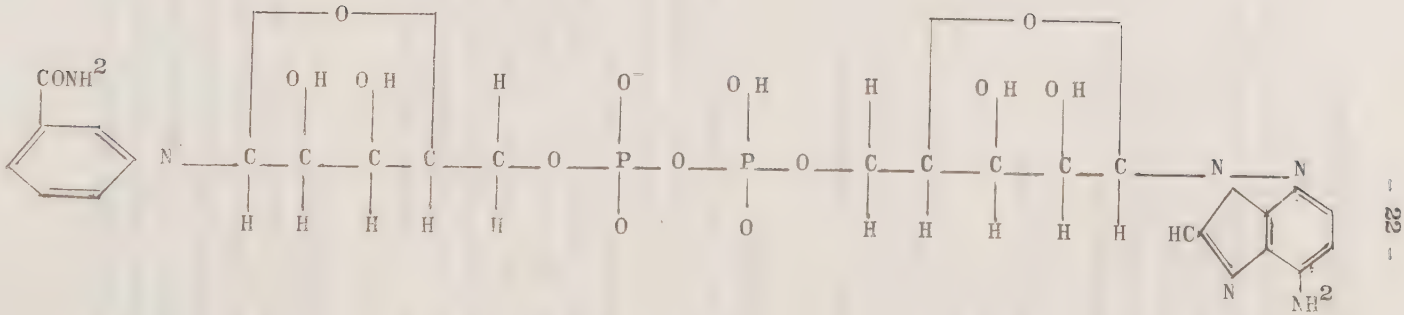
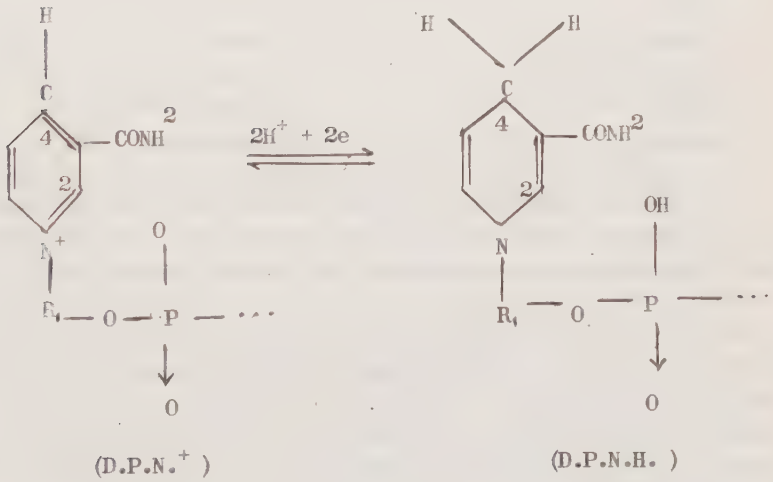


FIGURE 2

$$\left.\begin{matrix} D.P.N.^{+} \\ T.P.N.^{+} \end{matrix}\right\} + RH_2 \rightleftharpoons \left.\begin{matrix} D.P.N.H. \\ T.P.N.H. \end{matrix}\right\} + H^{+} + R$$

Dans le cadre de l'oxydation biologique qui conduira à une union hydrogène-oxygène, ce sont les hydrogène-transférases qui catalysent la déshydrogénation des substrats; il en est de même dans les processus anaérobies : p. ex. la glycolyse, la fermentation alcoolique, dans la réduction ou oxydation des acides pyruvique et lactique. En ce qui concerne le cycle de Krebs, elles commandent à la déshydrogénation des acides isocitrique, succinique ou encore malique.

FIGURE 3

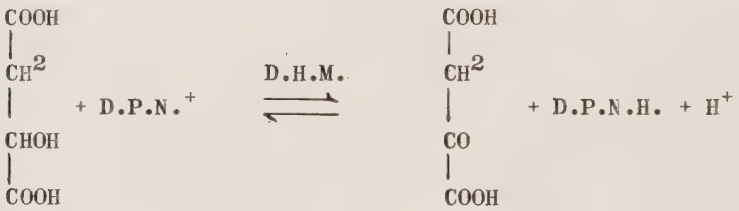


(D.P.N.$^{+}$) (D.P.N.H.)

Déshydrogénases malique et lactique.

Les déshydrogénases malique (D.H.M.) et lactique (D.H.L.) nous intéressent spécialement car elles sont en relation directe avec les acides oxaloacétique ou pyruvique, acides produits à partir de l'acide aspartique ou l'alanine lors de réactions de transamination.

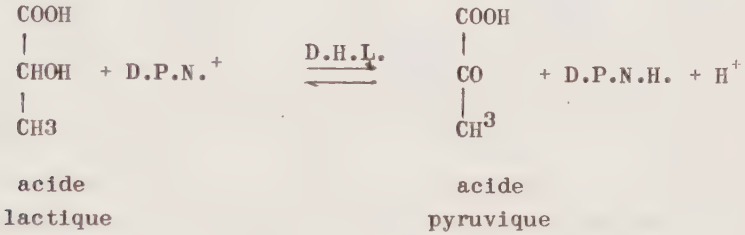
Très répandue dans le règne animal et chez les bactéries, commune aux tissus et humeurs de l'homme, la déshydrogénase malique fut découverte en 1910 indépendamment par THUNBERG (149), BATELLI et STERN (12). Elle catalyse la transformation réversible de l'acide malique en acide oxaloacétique lors du cycle de Krebs et utilise le D.P.N.$^+$, identifié par ANDERSSON (6). La réaction peut se résumer comme suit :



acide malique — acide oxaloacétique

Cet enzyme fut isolé pour la première fois à l'état pur par STRAUB en 1942 (145) à partir du muscle cardiaque du porc. On distingue aujourd'hui, suite aux travaux de BUCHER (23,40), deux catégories de ferment suivant sa répartition. La première se trouve dans le cytoplasme; c'est elle qui nous intéresse puisque susceptible de passer dans le sang circulant. La seconde est localisée dans les mitochondries. La répartition varie d'un organe à l'autre : dans le foie, la déshydrogénase malique du cytoplasme présente son maximum d'activité; suivent dans l'ordre décroissant : le coeur, les muscles du squelette et le cerveau; en ce qui concerne le muscle cardiaque, pratiquement toute son activité lui est conférée par le ferment cytoplasmique.

La déshydrogénase lactique fut découverte en 1919 dans le muscle par MEYERHOF (103). SZENT-GYORGYI, un peu plus tard (146), constata que cette diastase n'était active qu'en présence d'un coferment non encore identifié qu'ANDERSSON (7) allait reconnaître par la suite comme le D.P.N.$^+$. D'où le schéma de la réaction :



Cette réaction enzymatique est très spécifique et ne se produit que d'une façon infime avec le T.P.N.$^+$ (100). Sans action vis-à-vis de l'acide malique, elle oxyde surtout l'acide l-lactique, c.à d. la forme naturelle (104). Inversement, la réduction de l'acide pyruvique n'aboutira qu'au seul composé lévogyre.

Elle fut préparée pour la première fois à l'état pur par STRAUB (144) par extraction aqueuse du coeur de boeuf, suivie d'absorption sur du phosphate tricalcique et élution en milieu tamponné (pH 7,2). Cette préparation se termine par des précipitations successives à l'aide d'acétone et sulfate d'ammonium. De nos jours, elle s'obtient facilement à partir du sarcôme de Jensen du rat (87), du muscle du squelette du rat (87) ou encore du foie de rat (58).

La détermination de ces enzymes est également passée durant ces dernières années dans le domaine clinique et ceci grâce à AMELUNG et HORN (5), [illegible], GEHM et RAFTOPOULO (67,68,69), WACKER, ULMER et VALLEE (155), WROBLEWSKI (165, 166,176), SIEGEL et BING (141). Leur évaluation dans le sérum présenteaautant d'intérêt que celle des transaminases et la comparaison des diverses activités fermentaires peut fournir des résultats intéressants.

C. - DETERMINATION DES ACTIVITES ENZYMATIQUES, TRANSAMINASIQUES ET DESHYDROGENASIQUES

Toute détermination d'une activité enzymatique nécessite l'usage d'un substrat spécifique placé en milieu tamponné au pH optimum de l'enzyme, en absence d'inhibiteurs ou de substances qui détruiraient ou diminueraient l'activité diastasique. En présence d'un excès de substrat, l'équilibre se déplace d'une façon telle que seule la quantité d'enzyme présente influe sur la vitesse de réaction.

Ces déterminations nécessitent l'usage de techniques microchimiques qui dosent au cours de la réaction ou après un laps de temps déterminé, soit l'excédent de substrat, soit un des produits fabriqués dans la réaction ou consommé au cours de celle-ci.

On ne doit pas oublier enfin que ces enzymes sont de nature protidique et possèdent les propriétés de ces substances. Les protéines offrent un maximum de stabilité à basse température et un pH voisin de la neutralité; les enzymes présentent un optimum de conservation dans ces mêmes conditions. Sensibles à la chaleur, pour pouvoir être conservées, elles nécessitent la congélation. Zéro degré centigrade n'entraînera aucune modification dans leur activité pendant environ deux semaines, de même cinq jours à + 4° C ou 24 heures à la température de + 20° C. En revanche, toutes seront détruites par chauffage, d'autant plus rapidement que la température est plus élevée (79).

Ainsi que l'a fait remarquer récemment le Professeur COURTOIS (36), on ne doit pas négliger également le phénomène de dénaturation de surface des enzymes : "On sait que les protéines en solution diluée tendent à former une pellicule à la surface de l'eau. Elles prennent la forme de feuillets dont la partie inférieure contient les groupements hydrophiles plongeant dans l'eau. Les groupements hydrophobes des amino-acides réunis par des forces de Van der Waals, s'orientent vers l'extérieur. La molécule protéique subit ainsi des déformations et s'étale en se dénaturant. Dans les solutions concentrées par contre, les molécules s'agrège-

ront mieux entre elles et la dénaturation de surface sera diminuée". Ainsi, dans le sérum l'activité enzymatique est préservée plus facilement que dans les urines ou autres humeurs pauvres en protéines. De plus, on veillera à conserver les prélèvements congelés et dans les récipients bouchés de diamètre réduit.

En ce qui concerne les transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique, leur activité réversible portera sur un substrat formé pour la première tantôt par le couple acide aspartique-acide α-cétoglutarique, tantôt acide glutamique-acide oxaloacétique, pour la seconde tantôt alanine-acide α-cétoglutarique, tantôt acide glutamique-acide pyruvique. Le rendement de leur activité sera maximum pour une température de +40° C et un pH voisin de 7,5 (31). La cocaïne entraîne une inhibition de l'action enzymatique; par contre, ni l'héparine, ni les oxalates n'ont le moindre effet.

La déshydrogénase lactique agit sur les acides lactique et pyruvique, la déshydrogénase malique sur les acides malique et oxaloacétique et les conditions optima sont les mêmes que plus haut.

L'essor actuel de la détermination des transaminases et déshydrogénases tient aux progrès techniques réalisés. Nous classerons ces méthodes en plusieurs groupes : chromatographiques, manométriques, colorimétriques, fluorescimétriques et spectrophotométriques; les dernières sont particulièrement intéressantes, car elles sont basées sur l'usage de procédés biochimiques et surtout enzymatiques grâce aux propriétés particulières du D.P.N.$^{+}$. Ces techniques seront d'ailleurs décrites en détail, car ce sont elles que nous avons utilisées.

Techniques chromatographiques.

Basées sur le dosage de l'acide glutamique et par conséquent applicables au dosage de la T.G.O., cette méthode dérive de la technique de KRITZMANN (19). Mis au point par COHEN, HEKHUIS et CAMMARATA (26,27,32), ce procédé est cité par WROBLEWSKI, KARMEN et LA DUE (78,79), et fut étudié par BISERTE (15).

La réaction enzymatique a lieu à pH 7,6 (tampon phosphate) à +37° et pendant 18 heures. Elle est arrêtée alors par addition d'alcool absolu qui précipite les protéines. Ultérieurement l'acide glutamique est séparé par chromatographie sur papier, puis cet acide révélé par une solution de ninhydrine. Après élution du complexe formé, le dosage est effectué par colorimétrie.

Très longue et très complexe et peu précise, cette technique est aujourd'hui complètement délaissée.

Techniques manométriques.

Les méthodes manométriques sont basées sur la détermination manométrique dans un appareil de Warburg du gaz carbonique dégagé à partir des substances mises en oeuvre ou produites au cours des réactions enzymatiques, c.à d. des α-amino-acides ou des acides α-cétoniques.

La détermination manométrique de l'acide glutamique a été préconisée par MEISTER (99). Elle est basée sur l'action de la décarboxylase glutamique à pH 5 qui transforme l'acide glutamique en gaz carbonique et acide γ-amino-butyrique.

L'évaluation des acides α-cétoniques par ces méthodes est plus facile. On a pu déterminer ainsi soit l'acide α-cétoglutarique, soit l'acide pyruvique, soit l'acide oxaloacétique.

L'acide α-cétoglutarique produit dans les réactions de transamination à partir de l'acide glutamique, aussi bien en présence d'acide oxaloacétique que pyruvique, fut d'abord évalué par GREEN et ses collaborateurs (63) par oxydation en acide succinique par le perhydrol, en présence d'une oxydase spécifique.

L'acide pyruvique, formé au cours de la réaction catalysée par la transaminase glutamique pyruvique peut etre doséepar décarboxylation à l'aide d'un enzyme isolé de la levure (34).

L'acide oxaloacétique, substance entrant dans les réactions catalysées par la transaminase glutamique oxaloacétique et déshydrogénase malique, est facilement décarboxylé par voie chimique en présence de citrate d'aniline. Cette réaction, proposée par EDSON (51), OSTERN (114), a été utilisée par

O'KANE et GUNSALUS aux Etats-Unis (112) et par GONNARD (62) en France pour le dosage manométrique grâce au gaz carbonique formé. Cette même réaction est d'ailleurs utilisée dans différentes méthodes colorimétriques.

Enfin, les acides cétoniques peuvent être facilement décarboxylés par le sulfate cérique. Cette réaction est stoechiométrique pour la plupart des acides α-cétoniques et en particulier pour l'acide oxaloacétique (98).

Les techniques manométriques, d'un usage délicat, puisqu' elles nécessitent l'emploi d'un appareil de Warburg, sont cependant sensibles et exactes. Elles sont pourtant moins rapides que les procédés spectrophotométriques.

Techniques colorimétriques.

Basées sur le dosage des acides oxaloacétique et pyruvique, ce sont des méthodes de choix pour l'évaluation de l'activité de nos quatre ferments. Elles ne nécessitent aucun appareillage spécial et sont donc par là à la portée de tous les laboratoires.

GREEN et collaborateurs (63) ont d'abord utilisé une technique qui consiste à combiner l'acide pyruvique avec l'aldéhyde salicylique, révélation du composé par passage en milieu alcalin concentré, la coloration obtenue marquant son maximum d'absorption à 440 mμ.

Nettement plus utilisées sont celles qui dérivent de la méthode de TONHAZY et collaborateurs (150). Leur principe fondamental résidera dans la formation de dinitrophénylhydrazones par combinaison des acides α-cétoniques, formés au cours des réactions enzymatiques, avec la 2-4-dinitrophényl-hydrazine en milieu acide.

Un premier procédé a été cité par CABAUD, LEEPER, WROBLEWSKI (24,168), UMBREIT, KINGSLEY, SCHAFFERT et SIPLET (151), par BRUYET et DELAUNAY (21), par DUBACH (47). Il pourra se résumer ainsi :

Le substrat est un mélange d'aspartate ou d'alanine et d'α-cétoglutarate à pH = 7,5, une heure à +37° ou +40° C. La réaction sera arrêtée par inactivation de l'enzyme avec une

solution d'acide trichloracétique. S'il s'est formé de l'acide oxaloacétique, il sera décarboxylé par adjonction de citrate d'aniline; l'acide pyruvique formé sera combiné avec la dinitrophénylhydrazine. Néanmoins réagissent et les cétoacides restants du substrat et ceux résultant de la réaction. Cependant la complexation de l'acide pyruvique sera environ quatre fois plus rapide que celle des autres cétoacides. Ainsi, après un temps convenablement choisi, on extraira surtout l'hydrazone de celui-ci. Le solvant le plus utilisé est le toluène. Une partie aliquote de l'extractum sera traitée par de la potasse alcoolique. Il apparaît alors une coloration rouge dont l'intensité sera proportionnelle à la quantité d'hydrazone et par là à l'acide pyruvique ou encore à l'activité fermentaire.

La même technique est applicable aux déterminations des déshydrogénases lactique et malique.

REITMAN et FRANKEL (125) ont rapporté une technique plus simple, utilisée entre autres par BOIVIN et collaborateurs (17), PAGET (116), dans laquelle les temps de précipitation des protéines, de conversion de l'oxaloacétate en pyruvate (pour la transaminase glutamique oxaloacétique ou déshydrogénase malique) et d'extraction au toluène de l'hydrazone sont exclus. La coloration finale sera un mélange de celles des acides cétoniques produits et de ceux restants du substrat. Ces auteurs ont démontré que dans des conditions déterminées : incubation à +40° pendant 60 minutes pour la transaminase glutamique oxaloacétique et 30 pour la transaminase glutamique pyruvique, et en mesurant la coloration à la longueur d'onde de 505 mμ, l'intensité de la réaction est proportionnelle à l'activité enzymatique. En effet, la teneur en α-cétoglutarate n'a pas beaucoup changé durant la réaction et les densités optiques des deux hydrazones sont dans les rapports suivants :

$$\frac{3}{1} = \frac{\text{Pyruvate}}{\alpha\text{-cétoglutarate}}$$

$$\frac{2}{1} = \frac{\text{Oxaloacétate}}{\alpha\text{-cétoglutarate}}$$

Ces faits permettent de penser que l'augmentation de la coloration est due à un produit des réactions fermentaires.

Techniques spectrophotométriques.

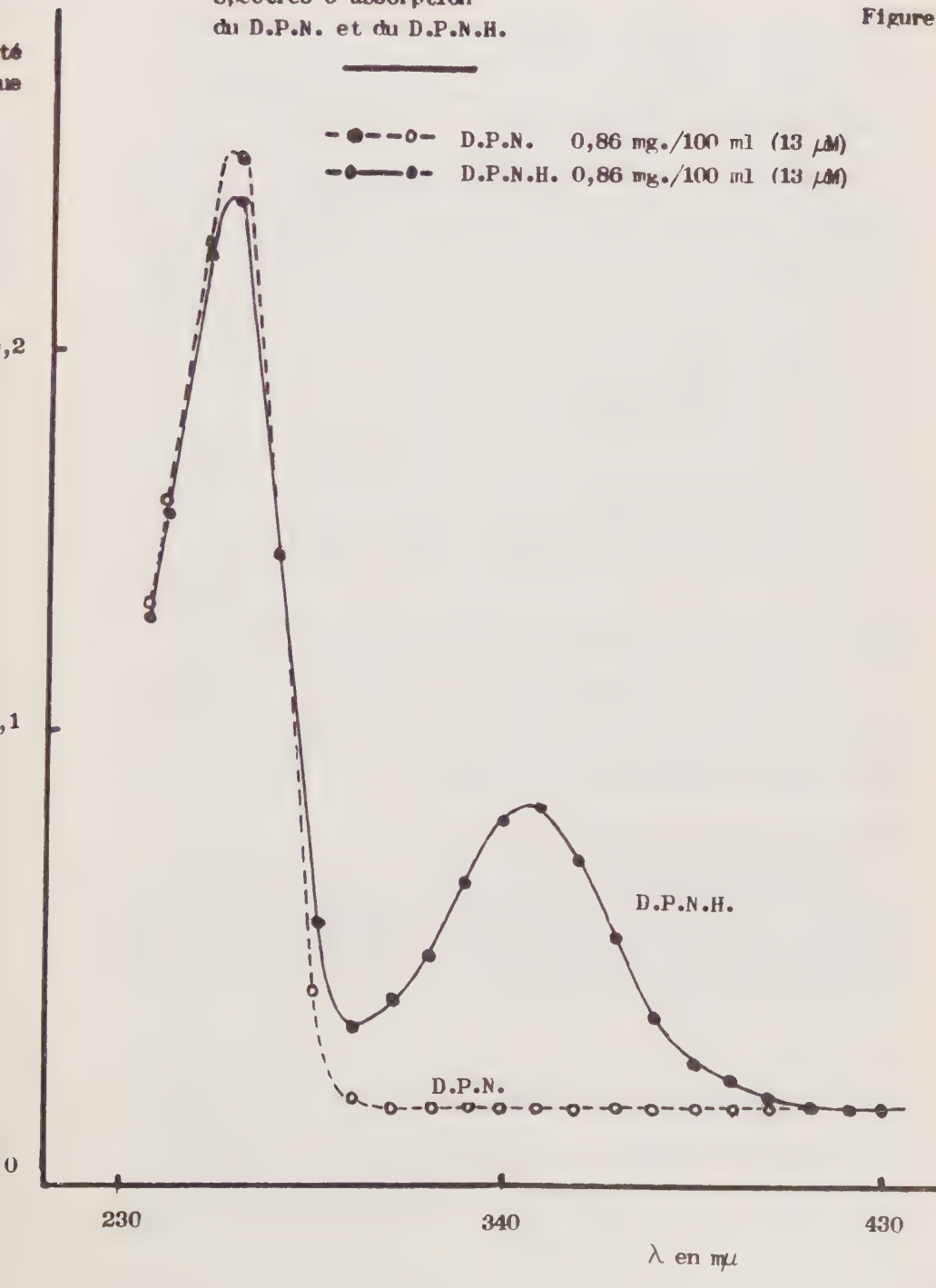
Procédé analytique moderne, la technique spectrophotométrique a été mise au point pour l'évaluation des aminophérases par GREEN (63) en 1945, puis reprise par CAMMARATA et COHEN en 1951. Elle pourra servir pour n'importe quel système pourvu que l'un des constituants du milieu, qu'il ait été apporté dans le substrat ou qu'il se soit formé au cours de la réaction, possède un pouvoir d'absorption mesurable et caractéristique pour une longueur d'onde déterminée. Néanmoins, les autres composants du milieu ne doivent pas interférer à la longueur d'onde choisie; d'où la nécessité de connaître les spectres de chaque corps apporté ou formé. GREEN avait pour sa part retenu la longueur d'onde de 280 mμ pour le dosage de l'acide oxaloacétique en milieu borate à pH 9,2.

Les procédés actuels de dosage spectrophotométrique puisent leurs origines dans les travaux de THEORELL (148) et de NISONOFF et ses collaborateurs (110). Ils furent repris par KARMEN, WROBLEWSKI et LA DUE. C'est une méthode très rapide ; les deux stades habituels de la détermination (réaction enzymatique suivie du dosage de l'un des constituants du milieu) sont couplés et l'évolution de la réaction est directement suivie au spectrophotomètre par l'apparition ou la disparition d'un des constituants. Ce constituant particulier est un pyridine-nucléotide : le diphosphopyridine-nucléotide (D.P.N.$^+$) ou sa forme réduite (D.P.N.H.)

Alors que le D.P.N.$^+$ n'absorbe pas la lumière, ni dans le visible ni dans le proche ultra-violet, il présente à l'état réduit un spectre d'absorption dont le maximum se situe à 340 mμ (figure 4). A cette longueur d'onde, la concentration du D.P.N.H. dans le milieu varie-t-elle sous l'influence d'un facteur quelconque, l'intensité de sa bande d'absorption variera dans le même sens. Cette relation directe entre la densité optique de la solution et la teneur en D.P.N.H. d'un milieu ne possédant pas de substances opaques à cette longueur d'onde, permet donc d'élaborer bon nombre de dosages d'enzy-

Spectres d'absorption
du D.P.N. et du D.P.N.H.

Figure



zymes ou de produits de réaction qui utilisent le D.P.N.$^+$ ou le D.P.N.H.

De plus, le D.P.N.H. n'étant pas autooxydable, on peut opérer sans précaution particulière, à l'air libre.

S'appliquant à l'évaluation des complexes fermentaires à D.P.N.$^+ \rightleftharpoons$ D.P.N.H., donc entre autres aux déshydrogénases lactique et malique, ce procédé permettra la détermination de l'activité des diastases qui donnent naissance à des corps susceptibles de constituer un substrat pour cette catégorie d'enzymes. C'est le cas des transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique.

Technique fluorescimétrique.

La technique fluorescimétrique de détermination d'activité enzymatique se rapproche de la méthode spectrophotométrique de KARMEN, WROBLEWSKI et LA DUE, car elle fait appel aux mêmes réactions. Les réactifs utilisés sont identiques. Mais au lieu d'apprécier la disparition du D.P.N.H., on détermine la fluorescence qu'émet dans des conditions définies le complexe résultant de la condensation du D.P.N.$^+$ (qui s'est formé au cours de la réaction) avec la méthyl-éthylcétone.

Appliquée par LAURSEN, ESPERSEN et HANSEN à l'évaluation de l'activité transaminasique glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique (91,92), elle pourra s'utiliser dans tous les dosages où intervient du D.P.N.H.

Méthodes basées sur l'emploi des isotopes.

Intéressant soit des déterminations d'activité dans des mélanges complexes, soit encore la mise en évidence d'une action fermentaire très faible, les techniques basées sur l'emploi des isotopes ne peuvent être utilisées que dans le domaine de la recherche pure (9).

Description des techniques utilisées.

Les procédés utilisés dans ce travail consistent en une adaptation des méthodes spectrophotométriques préconisées par KARMEN, WROBLEWSKI et LA DUE. Technique très rapide puisque les deux stades de la détermination sont couplés, le dosage réside dans l'appréciation de la disparition du D.P.N.H. à 340 mμ, longueur d'onde où se situe le maximum d'absorption de la lumière. Son coefficient d'extinction est de $6,22 \times 10^3$ Mol/l., c.à d. que la disparition d'une micromolécule (par oxydation) pour un système de 1 ml et de 1 cm d'épaisseur, entraîne à 340 mμ une diminution du rapport log I° / I (densité optique) de 6,22. Si le D.P.N.H. vient à disparaître lentement, la densité optique baisse elle aussi peu à peu et c'est cette diminution qui est mesurée.

Pour noter cette chute de la densité optique, nous avons utilisé un spectrophotomètre de BECKMAN (Modèle D.U.), des cuves en quartz (de 1 cm et 3,6 ml de capacité) et une verrerie exclusivement réservée à cet usage (micropipettes spéciales).

Ce spectrophotomètre nous a permis de travailler à 340 mμ, longueur d'onde optimum. Equipé d'une lampe à hydrogène comme source à U.V., il donne un spectre continu, alors que les appareils à lampes à vapeur de mercure ne fournissent qu'un spectre discontinu. Cette dernière source en effet, n'émet que certaines bandes dont une à 366 mμ, longueur d'onde qui a été utilisée par plusieurs auteurs.

Les réactifs sont toujours préparés en petite quantité du fait de leur labilité. Leur conservation a lieu au froid et dans des flacons bien bouchés. Quant à la solution tamponnée du substrat, milieu idéal pour la prolifération bactérienne, elle est répartie, lors de la préparation, dans de petits flacons placés au froid pour éviter la contamination de l'ensemble.

Evaluation de l'activité transaminasique glutamique oxalo acétique.

Le principe de la détermination de l'activité transaminasique glutamique oxaloacétique repose sur la réaction fondamentale :

acide glutamique + acide oxalo-acétique ⇌ acide aspartique + acide α-cétoglutarique

réaction qu'on fait évoluer à pH = 7,4 de droite à gauche en fournissant comme substrat le couple acide aspartique-acide α-cétoglutarique. L'acide oxaloacétique formé entre lui-même dans une réaction d'oxydo-réduction; il est hydrogéné en acide malique sous l'influence de la deshydrogénase malique à D.P.N.H. comme coenzyme. Cette réaction rendra, par la disparition du spectre d'absorption du D.P.N.H., le phénomène mesurable :

acide oxalo-acétique + $D.P.N.H. + H_+$ ⇌ acide malique + $D.P.N._+$

L'acide oxaloacétique formé étant utilisé au fur et à mesure de son élaboration, la réaction de transamination est complète. De plus, la consommation de D.P.N.H. est proportionnelle à la quantité d'acide oxaloacétique en présence, l'équilibre de la réaction évoluant à ce pH vers la formation d'acide malique. Il y a donc une relation directe entre la diminution de la densité optique du milieu et l'activité fermentaire.

Différents réactifs sont utilisés :

- Solution tamponnée de substrat : solution tampon de phosphates (0,1 M) à pH = 7,4 contenant $4,2 \times 10^{-2}$ M d'acide aspartique. Ces produits sont dissous dans de l'eau bidistillée additionnée à $1/10^5$ d'éthyl-mercuri-thiosalicylate de sodium pour améliorer sa conservation.
- Solution d'α-cétoglutarate de sodium à 0,2 M dans de l'eau bidistillée.
- Solution de D.P.N.H. : solution $1,2 \times 10^{-2}$ M (80 mg/10 ml) dans de l'eau bidistillée. Cependant, pour éviter une dégradation de ce corps en milieu acide, il y a intérêt à le dissoudre dans une solution tamponnée à pH = 7,4 ou d'ajouter environ 20 ctg/10 ml de bicarbonate de sodium.
- Suspension de déshydrogénase malique : 0,5 mg d'enzyme dans un ml.

Ces réactifs sont mélangés dans une cuve sèche du spectrophotomètre :

- Solution tamponnée du substrat	:	2,30 ml
- Solution de D.P.N.H.	:	0,05 ml
- Suspension de déshydrogénase malique	:	0,05 ml
- Solution à analyser	:	0,50 ml

Ce mélange est placé pendant 10 à 15 minutes à +25° C pour se débarrasser des substances secondaires, interférrantes, qui réagissent avec une partie du D.P.N.H. en excès. Après ce temps, on ajoute :

- Solution d'α-cétoglutarate de sodium	:	0,10 ml

Le mélange est placé rapidement dans la chambre de lecture du BECKMAN dont on règle la densité optique sur 0,700 en jouant sur la fente et la sensibilité. Le chronomètre est alors déclenché et on lit la diminution de la densité optique de minute en minute pendant 5 à 6 minutes. Si la chute est rapide, on lit toutes les 30 secondes et 2 à 3 minutes suffisent. Si elle est encore plus rapide, dépassant les 0,030 par minute, on opère sur une prise d'essai plus faible. Il en est de même lorsque la densité optique initiale du mélange est trop élevée.

La température du mélange réactif variera très peu durant l'opération, car l'appareil est placé dans une enceinte où la température est pratiquement constante. L'influence de la température, considérable lorsque la chute de la densité optique est rapide, ne modifie pas grandement le résultat lorsque la chute est lente.

Le réglage arbitraire que nous utilisons n'est valable que pour un appareil très stable, car seul importe la variation de la densité optique en fonction du temps et non sa valeur absolue.

La valeur 0,700 a été choisie à la fois parce que la moindre variation y est facilement mesurable et de plus parce que tous les dosages, quelle que soit l'absorption du milieu analysé, sont effectués dans les mêmes conditions et avec la même précision. Ainsi, par cette technique, chaque mélange constitue son propre témoin.

Evaluation de l'activité transaminasique glutamique pyruvique

Très voisine de celle de la transaminase glutamique oxaloacétique, l'évaluation de la transaminase glutamique pyruvique utilise un réactif à base d'alanine à la place d'acide aspartique. Il se forme alors de l'acide pyruvique qui est ultérieurement soumis à l'action de la déshydrogénase lactique.

Les solutions d'α-cétoglutarate de sodium et de D.P.N.H. sont identiques; par contre, les solutions suivantes diffèrent :

Solution tamponnée de substrat : solution tampon à 0,1 M de phosphates à pH = 7,4, contenant 0,11 M d'alanine.

Suspension de deshydrogénase lactique à 0,25 mg/ml.

Pour la détermination, on utilise :

- Solution tamponnée de substrat : 1,82 ml
- Solution de D.P.N.H. : 0,04 ml
- Suspension de deshydrogénase lactique: 0,04 ml
- Solution à analyser : 1,00 ml
- Solution d'α-cétoglutarate de sodium : 0,10 ml

Le principe de la lecture est identique à celui de la transaminase glutamique oxaloacétique.

Evaluation de l'activité de la deshydrogénase lactique.

L'évaluation de l'activité de la deshydrogénase lactique est basée sur la réaction d'oxydoréduction :

$$\text{Lactate} + \text{D.P.N.}^{+} \rightleftharpoons \text{Pyruvate} + \text{D.P.N.H.} + \text{H}^{+}$$

dont l'équilibre se déplace du côté lactate-D.P.N.+. On travaille encore à +25° C en mélangeant :

- Solution à analyser 0,20 ml
- Solution tamponnée de substrat (solution phosphatée à 0,05 M à pH = 7,6, contenant 5×10^{-3} M de pyruvate) 1,95 ml
- Solution de D.P.N.H. (sol 5×10^{-3} M) 0,05 ml

On mélange, puis on lit au spectrophotomètre de BECKMAN comme pour les transaminases.

Evaluation de l'activité deshydrogénasique malique.

Pour déterminer l'activité deshydrogénasique malique, nous avons adopté une technique voisine de la méthode directe d' ORDELL (113). Elle est basée sur la réaction :

$$\text{Oxaloacétate} + \text{D.P.N.H.} + H^+ \rightleftharpoons \text{malate} + \text{D.P.N.}^+$$

où l'équilibre se déplace vers la droite à pH 7,3 et dans le système suivant :

- 3,00 ml tampon à pH 7,3 obtenu à partir de
  - Acide éthylène-diamine-tétraacétique (E.D.T.A.) : 1,350 g
  - Tris-hydroxy-méthyl-aminométhane (Tris) : 1,775 g
  - Chlorure de potassium : 0,500 g
  - Eau distillée : 100 ml
- 0,20 ml solution de D.P.N.H. = 15 mg/10 ml dans du tampon à pH = 8,5 (E.D.T.A. : 0,12 g %, Tris : 0,445 g %)
- 0,20 ml de liquide à analyser
- 0,20 ml d'oxaloacétate de sodium à 6 mg pour 10 ml de tampon pH : 8,5. Cette solution d'oxaloacétate est utilisée dans l'heure même qui suit sa préparation, étant très instable.

On évalue la variation de la densité optique à 340 mμ comme pour les précédents dosages.

L'oxaloacétate est un réactif très labile, surtout en solution; il nécessite une dissolution extemporanée; il se dégrade rapidement en pyruvate, changeant ainsi le test en une évaluation combinée des activités deshydrogénasiques malique et lactique. Notre échantillon a été contrôlé avant usage et tous les deux mois de son utilisation. Nous avons vérifié notre échantillon par sa réaction éventuelle avec la deshydrogénase lactique. Le pH de l'évaluation de la déshydrogénase lactique étant très voisin de celui de la deshydrogénase malique, nous avons seulement remplacé la solution à analyser par une suspension aliquote de deshydrogénase lactique. Bien que l'oxaloacétate utilisé ne contienne que des traces infimes de pyruvate, nous en avons tenu compte dans le calcul

de nos résultats.

Cette méthode de dosage a pu être améliorée tout récemment par l'usage de la transaminase glutamique oxaloacétique. Reconnaissant l'instabilité de l'oxaloacétate, différents auteurs ont songé à sa préparation extemporanée lors d'une première réaction de transamination catalysée par la transaminase glutamique oxaloacétique en utilisant les acides aspartique et α-cétoglutarique comme substrat.

Toutes les techniques décrites dérivent des méthodes classiques de KARMEN, WROBLEWSKI et LA DUE, ou encore d'ORDELL. Leur originalité réside dans la suppression du blanc, le mélange réactif constituant son propre témoin.

Expression de l'activité enzymatique.

A l'heure actuelle, de nombreuses unités, et des plus variées, servent à exprimer l'activité fermentaire.

C'est ainsi que pour les diastases catalysant les phénomènes de transamination et deshydrogénation, et pour ne citer que les unités afférentes aux techniques spectrophotométriques :

- WROBLEWSKI, LA DUE et KARMEN définissent l'unité d'activité comme la quantité d'enzyme, contenue dans un ml ou un g. de produit qui, à +25° C, pour un système réactif de 3,0 ml et sous une épaisseur de 1 cm, provoque une diminution de l'absorption du D.P.N.H. à 340 mμ égale à 0,001 unités de densité optique par minute.
- Pour ORDELL, l'unité correspond à la quantité de ferment contenu dans 0,2 ml ou g. de substance qui, à 340 mμ, pour un système de 3,6 ml, sous une épaisseur de 1 cm et à +25° C, entraîne par minute une chute de l'absorption de la lumière du D.P.N.H. égale à 0,005 unités de densité optique.
- Quant à BUCHEL, une unité correspondra à la quantité d'enzyme qui, à +25° C et 366 mμ, produit en 100 secondes un changement de l'extinction du D.P.N.H. de 0,100, rapporté à 1 ml et une épaisseur de 10 mm, c.à d. agit sur 0,03 μ mol/ml ou 20,1 μg/ml de D.P.N.H.
- Pour AMELUNG et HORN, l'unité serait la quantité d'enzyme

par ml ou g. de substance qui, par heure, catalyse la transformation de 1 μ môle de substrat à +25° C.

C'est cette dernière unité qui se rapproche le plus de celle souhaitée par la Commission d'Enzymes de l'Union Internationale de Biochimie (I.U.B.) et citée par Monsieur le Professeur COURTOIS (36).

L'unité enzymatique type serait la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation d'une micromôle de substrat par minute dans des conditions déterminées, unité qui pourrait être qualifiée sous peu d'"internationale".

En attendant cette codification, voici quelques correspondances d'unités pour nos conditions de travail : température = +25° C, λ = 340 mμ,

1 unité WROBLEWSKI correspond à :

- 0,0265	Unités	BUCHER
- 0,0289	Unités	AMELUNG-HORN
- 0,33	Unités	ORDELL
- 0,0048	Unités	"Internationales".

o

o o

D E U X I E M E P A R T I E

INTERET DE LA DETERMINATION DES ACTIVITES FERMENTAIRES SERIQUES TRANSAMINASIQUES ET DESHYDROGENASIQUES EN CLINIQUE HUMAINE

Depuis plusieurs années, de multiples travaux ont été consacrés à la recherche d'épreuves biologiques permettant de déceler l'existence de la nécrose cellulaire et d'en apprecier l'étendue in vivo. En effet, l'exploration biopsique, très délicate et parfois impraticable, est une technique aveugle qui n'atteint pas toujours la partie intéressante. L'hypothese de la fuite des constituants de la cellule dans le sang circulant en cas de lésion a orienté les recherches vers la détermination dans le sérum des corps libérés par la cytolyse, notamment des transaminases glutamique-oxaloacétique et glutamique pyruvique et certaines deshydrogénases dont les deshydrogénases lactique et malique. Normalement présents dans le sang, ces ferments voient alors leur activité s'y élever.

Nous avons établi les activités sériques transaminasiques glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique et deshydrogénasiques lactiques et maliques physiologiques. Pour ce, nous avons appliqué nos techniques spectrophotométriques au sérum de vingt sujets sains (recrues de l'Armée). Nous avons déterminé une activité comprise entre :

- 17 et 35 Unités spectrophotométriques Wroblewski pour la Transaminase glutamique oxaloacétique sérique (moyenne : 23 ± 6,5)
- 15 et 20 Unités spectrophotométriques Wroblewski pour la Transaminase glutamique pyruvique sérique (moyenne : 18, 5 ± 2)
- 139 et 160 Unités spectrophotométriques Wroblewski pour la déshydrogénase lactique sérique (moyenne : 150 ± 10)
- 24 et 40 Unités spectrophotométriques Ordell pour la déshydrogénase malique sérique soient 72 et 120 Unités spectrophotométriques Wroblewski (moyenne : 90 ± 30).

Comparons ces valeurs à celles admises comme normales par WROBLEWSKI. Pour celui-ci, la normale oscille entre :

- 4 et 44 Unités spectrophotométriques Wroblewski pour la Transaminase glutamique oxaloacétique sérique
- 5 et 35 Unités spectrophotométriques Wroblewski pour la Transaminase glutamique pyruvique sérique
- 200 et 680 Unités spectrophotométriques Wroblewski pour la Déshydrogénase lactique sérique
- 100 et 200 Unités spectrophotométriques Wroblewski pour la Déshydrogénase malique sérique.

Nos valeurs concordant parfaitement en ce qui concerne les deux transaminases, sont un peu plus faibles que les activités D.H.L.S. et D.H.M.S. que décrit cet auteur.

La présence dans le sang de ces ferments semble due à la perméabilité de la membrane cellulaire, leur activité sérique nulle in vivo à l'absence de coferment (D.P.N.H.) dans le sérum. Plusieurs enzymes y supportent une même activité diastasique; ainsi l'activité Transaminasique glutamique oxaloacétique est fournie par trois constituants (A, B et C) d'activité variable que JUNGNER (75) a pu isoler par chromatographie et électrophorèse : situés tous entre les $\alpha 2$- et β-globulines, ce sont les composants B et C les plus actifs.

Nombreux sont les cas où des élévations ont pu être observées :

- en Chirurgie où il y a lésion des muscles du squelette (18, 37, 38, 120)
- dans les processus de nécrose, la gangrène
- dans les lésions consécutives à une exposition aux radiations (20, 28, 83, 105)
- lors d'affections sanguines comme les anémies hémolytiques (congénitales ou acquises), les mononucléoses infectueuses, les anémies mégaloblastiques avec hématies et falciformes , les thrombophlébites, les embolies artérielles avec gangrène (21, 66, 167)
- lors des infarctus du myocarde, pulmonaire, splénique, intestinal, rénal

- dans les pancréatites, surtout interstitielles (30).

Cependant, les coeur et foie étant les organes les plus riches en transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique et deshydrogénases lactique et malique, c'est en pathologie cardio-vasculaire et hépato-biliaire que ces tests enzymatiques seront d'un intérêt primordial.

A. - TRANSAMINASES GLUTAMIQUE OXALOACETIQUE ET GLUTAMIQUE PYRUVIQUE ET DESHYDROGENASES LACTIQUE ET MALIQUE EN PATHOLOGIE CARDIO-VASCULAIRE

Dans ce chapitre, nous étudierons l'influence des affections vasculaires, entraînant, oui ou non, une lésion musculaire cardiaque ou pulmonaire ou encore cérébrale, et cardiaques sur les taux enzymatiques sériques transaminasiques glutamique oxaloacétique, glutamique pyruvique et deshydrogénasiques lactique et malique.

LES ACTIVITES ENZYMATIQUES TRANSAMINASIQUE ET DESHYDROGENASIQUE DANS L'INFARCTUS DU MYOCARDE.

Données générales :

En 1954, WROBLEWSKI et LA DUE (88) montrent que l'activité sérique transaminasique glutamique oxaloacétique s'élève chez la plupart des sujets atteints d'infarctus du myocarde, et ceci de façon très nette. Suivant au jour le jour la transaminasémie de ces malades, ils constatent une élévation très rapide avec un maximum pouvant atteindre jusqu'à vingt fois le taux normal entre la 12ème et la 24ème heure. L' activité du sérum décroît alors lentement et après six jours de maladie, sera revenue à la normale.

Beaucoup plus rare dans le myocarde, la transaminase glutamique pyruvique ne verrait pas son taux sérique s'élever dans la nécrose de ce tissu. Cependant, à l'heure actuelle, on est beaucoup moins affirmatif et le problème reste confus.

En 1956, ces mêmes auteurs (176) parlent de l'élévation de la déshydrogénase lactique dans le sérum dans les cas

d'infarctus du myocarde, augmentation se manifestant également dans les leucémies et carcinômes. Au cours de l'infarctus du myodarde, le taux sérique s'élève rapidement pour retourner à la normale au bout de 5 à 6 jours. WACKER et ses collaborateurs (155) rapportent des observations semblables.

Cette même année, SIEGEL et BING (141) observent une élévation du taux sérique de la deshydrogénase malique dans les infarctus du myocarde. Quelques heures après la lésion, sa teneur atteint jusqu'à 20 fois la valeur normale; elle plafonne alors pendant un à deux jours autour de ce maximum pour retomber à la normale danx les 7 jours qui suivent. HESS et RAFTOPOULO en 1957 publient des constatations identiques (69).

SHABETAI et ses collaborateurs (139) montrent que ce n'est qu'après la 6ème et 10ème heure après le début de la lésion que s'élève la transaminase glutamique oxaloacétique sanguine pour atteindre son summum vers la 24ème heure. Cette constatation s'est vérifiée pour les autres ferments sériques; il en résulte des résultats quelquefois normaux pour des prélèvements précoces.

Observations expérimentales :

Sur le plan expérimental, AGRESS et ses collaborateurs (3) semblent être les premiers à avoir abordé la question. C'est en 1955 que par injection intra-coronarienne de "microsphères" de matière plastique, ils provoquent chez le chien un infarcissement. Ils observent une élévation du taux sérique de la transaminase glutamique oxaloacétique entre la 6ème et 48ème heure qui suivent l'inoculation. De plus, cette augmentation serait en rapport avec l'étendue des lésions.

ROBERTSON, KELLNER et SCHWEID obtiennent un résultat identique chez le lapin par des injections intraveineuses de papaïne.

NYDICK, WROBLEWSKI et LA DUE (111), critiquent chez AGRESS une trop longue anesthésie des animaux, ce qui pourrait conduire à une atteinte hépatique avec libération d'enzyme dans le sang; à ROBERTSON, ils reprochent d'avoir provoqué avec la papaïne des lésions tissulaires autres que myocardiques. Infirmant les précédents résultats, ils utilisent la méthode de LE RAY (ligature plus ou moins complète des coronaires) et

concluent :

- Le taux sérique de la transaminase glutamique oxaloacétique monte, élévation se manifestant en moyenne six heures après la ligature. La valeur de ce nouveau taux et sa durée semblent proportionnelles à l'étendue de l'infarctus.
- Une ischémie faible, de moins de 45 minutes, n'influencerait nullement le taux sérique de la transaminase glutamique oxaloacétique.
- Dans le muscle infarci, le taux du même enzyme s'abaisse de façon considérable; d'où l'hypothèse suivante : l'élévation de la transaminase glutamique oxaloacétique sérique est une conséquence du passage dans le sang circulant de la diastase tissulaire, le passage lui étant facilité encore par une modification de la perméabilité des parois cellulaires.

Ces observations sont confirmées par RUDOLPH et ses collaborateurs (127) et MERRILL (101) qui, lui, procède à des ligatures d'une des branches de l'artère coronaire. Ce dernier de plus, conclut à une proportionnalité directe entre l'augmentation enzymatique sérique et l'étendue de la lésion. Une seconde proportionnalité, mais en raison inverse, existerait entre l'élévation dans le sérum et la concentration de l'enzyme dans le myocarde infarci.

RUDOLPH et SCHAEFFER (127) comparent chez le chien les valeurs après infarctus et simple ischémie transitoire consécutive à des ligatures plus ou moins serrées des coronaires. En cas d'infarctus très prononcé, il y aurait corrélation entre la taille de la lésion et le taux de l'enzyme sanguin. Cependant, cette corrélation serait moins nette lorsque les lésions restent microscopiques, l'ischémie de faible durée ne modifiant pas la transaminase glutamique oxaloacétique sérique.

PEARCE et PREUSS (119) observent des lapins atteints de myocardite virale et constatent que, s'il y a nécrose, elle se traduit par une élévation de la transaminase glutamique oxaloacétique sérique.

Dans le coeur de chien, WROBLEWSKI dose 240.000 Unités de deshydrogénase lactique par gramme de tissu humide et 300.000 Unités de transaminase glutamique oxaloacétique par gramme du

même tissu.

RUEG SEGGER et ses collaborateurs (128) comparent les taux sériques de la transaminqse glutamique oxaloacétique et deshydrogénase lactique dans des infarctus du myocarde experimentaux du chien : la première semble plus élevée et élevée pendant plus longtemps que la seconde; la transaminase glutamique pyruvique sérique serait inchangée.

JENNINGS (74) chez le même animal, observe des élévations des mêmes enzymes. De plus, une constatation intéressante : un retour à la normale beaucoup plus tardif en ce qui concerne la deshydrogénase lactique sérique.

Ces observations expérimentales concordent-elles avec celles notées en pathologie humaine ? Nous y répondrons dans le paragraphe qui suit en nous basant sur les observations cliniques et notamment nos propres résultats.

Observations cliniques :

Les premières observations de LA DUE et WROBLEWSKI (88) furent reprises par de nombreux auteurs.

STEINBERG et OSTROW (143) en 1955, observent un groupe de malades atteints d'infarctus du myocarde. Ils remarquent que dans presque tous les cas où le taux sérique de la transaminase glutamique oxaloacétique est élevé, il existe des signes indiscutables tant cliniques qu'électrocardiographiques d'infarctus. Inversement dans la majorité des cas où les données cliniques et électrocardiographiques sont positives, la transaminase glutamique oxaloacétique sérique est anormalement élevée.

GOLDNER (60), RUDOLPH (126), Mc HARDY (97), DU TOIT (49) en 1955, puis LA DUE (90), KATTUS (81), CHINSKY (29), MERRILL (102), KRAUSE (85), DENNEY (41), OSTROW (115), BIÖRCK (14), KESSLER (84), WHITE (163) en 1956, HANSON (64), IVERSEN (73), RATNER (124), SHABETAI (139), HOEVENAARS (70), BING (13), KALTENBACH (77), LOSNER (94), JUNKER (76), MOORE (107), à nouveau KATTUS (82), et CHINSKY (30) en 1957, apportent des résultats identiques qui seront encore confirmés ultérieurement (164).

Les déterminations des activités sériques deshydrogénasiques lactique et malique sont appliquées dès 1956 à l'investigation clinique par WROBLEWSKI (176), AMELUNG et HORN (5), SIEGEL et BING (141). Leur évaluation est reprise par la suite par, entre autres, HESS (67, 69), WACKER (155), SAMPSON (132), VESELL et BEARN (153).

Recherches personnelles :

Nous avons étudié quinze cas d'infarctus du myocarde. Nous avons évalué les activités sériques transaminasiques glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique et deshydrogénasiques lactique et malique.

Dans quatorze cas, les signes électrocardiographiques étaient nets; dans le quinzième, l'électrocardiogramme était ininterprétable. La température des malades oscillait autour de 38°2, le nombre des leucocytes circulants autour de 7000/mm^3.

Les prélèvements pour le diagnostic ont tous eu lieu dans les 36 heures qui ont suivi la douleur; un seul a pu être effectué tout de suite après le début de l'infarcissement (dans les premières trente minutes). L'étude de l'évolution des transaminasémies et deshydrogénasémies a porté sur quatre cas; là, les prélèvements ont été effectués toutes les 24 heures pendant 6 à 12 jours.

Nos résultats sont groupés dans le tableau II et la figure 5, les résultats normaux et subnormaux ayant été relevés dans les prélèvements soit précoces, soit tardifs (après 30 heures).

TABLEAU II

Nature de l'enzyme	Nombre de cas étudiés	Résultats élevés	à la limite sup.	normaux
T.G.O.S.	15	10	1	4
T.G.P.S.	15	3	2	10
D.H.L.S.	12	6	2	4
D.H.M.S.	5	4	-	1

Quant à l'évolution des transaminasémies et deshydrogénasémies au cours des infarctus du myocarde (figure 6), nous avons pu observer d'une part que l'élévation des transaminases glutamique oxaloacétique et deshydrogénases lactique et malique du sérum n'est pas instantanée; d'autre part, un pic se situe entre la 12ème et 24ème heure après la lésion; puis s'amorce un retour vers la normale dès le 2ème jour; d'abord rapide, il ralentit de plus en plus; vers le 5ème à 6ème jour T.G.O.S. et D.H.M.S. seront revenues à la normale. La D.H.L.S. revient plus lentement à son taux physiologique. La transaminase glutamique pyruvique sérique reste normale ou subnormale dans 75 % des cas.

En ce qui concerne les élévations, c'est le taux de la deshydrogénase malique sérique qui a subi les variations les plus importantes; suivent dans l'ordre décroissant la transaminase glutamique oxaloacétique sérique, puis la deshydrogénase lactique sérique.

Les élévations de la T.G.O.S., D.H.L.S. et D.H.M.S. sont de rigueur. L'augmentation est très importante et indépendante du taux électrocardiographique, également - d'après la littérature - du taux leucocytaire et de la température du malade. Néanmoins la proportionnalité entre les taux enzymatiques sériques et l'étendue de la lésion, notion convaincante en pathologie expérimentale, n'est plus applicable à la pathologie clinique humaine. En effet, interfèrent de nombreux facteurs comme l'état général du sujet et surtout les récidives. En ce qui concerne la deshydrogénase lactique sérique, son retour à la normale tardif, noté chez le chien par JENNINGS, a pu être observé chez l'homme; s'élevant jusqu'à 10 fois le taux normal au cours des premières heures de l'accident, la D.H.L.S. n'amorce sa chute que le 5ème ou 6ème jour; entre le 7ème et 11ème jour, quelquefois le 16ème, elle sera retournée à la normale.

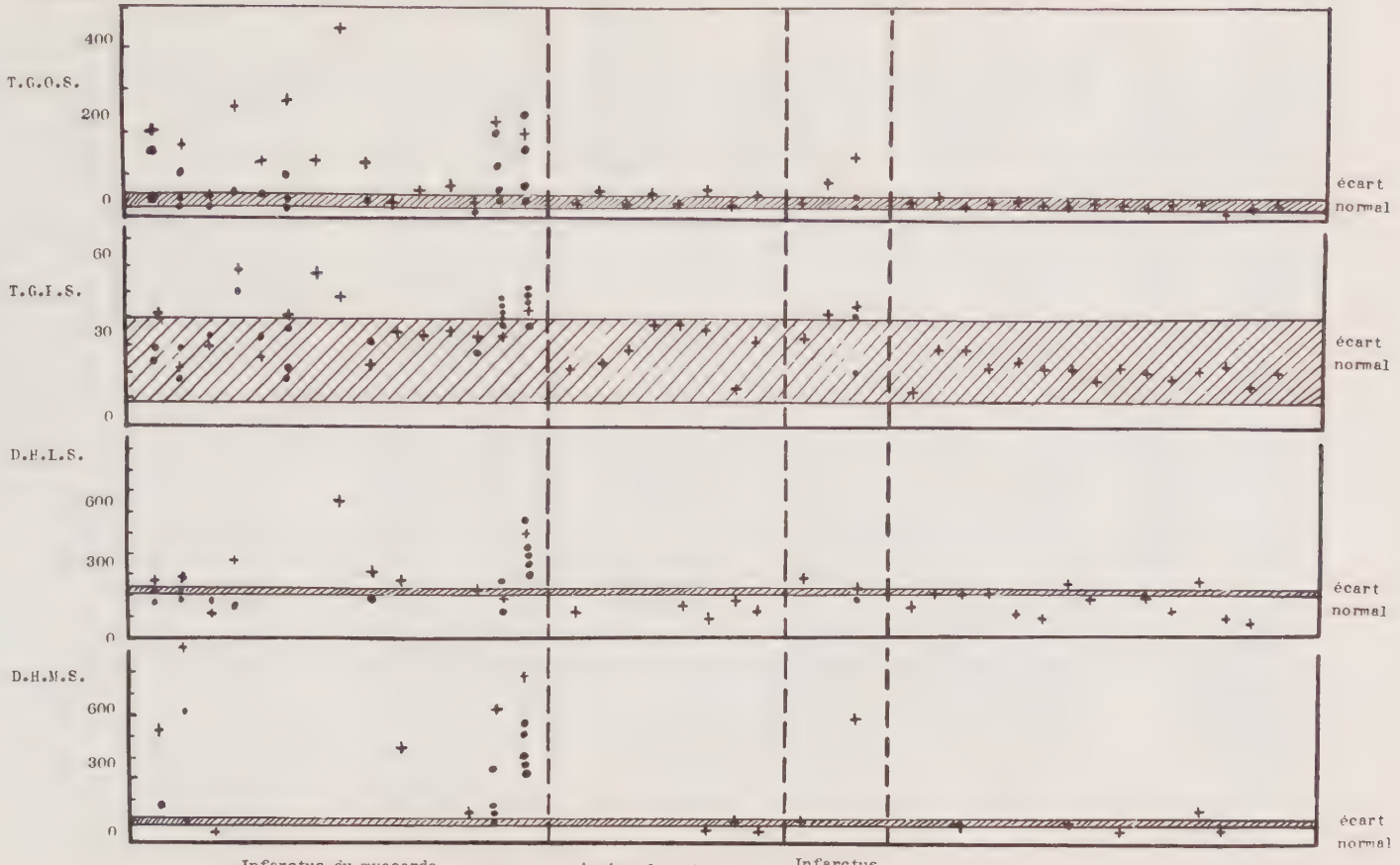
Si survient une récidive dans les premiers jours qui suivent la première lésion - nous-mêmes l'avons pu observer sur un cas - la transaminase glutamique oxaloacétique sérique remonte; la deshydrogénase lactique du sérum n'ayant pas encore amorcé sa chute, reste élevée; quelquefois même, elle s'élève encore davantage.

Figure 5

Activites T.G.O.S., T.G.P.S., D.H.L.S., D.H.M.S. en pathologie cardiovasculaire

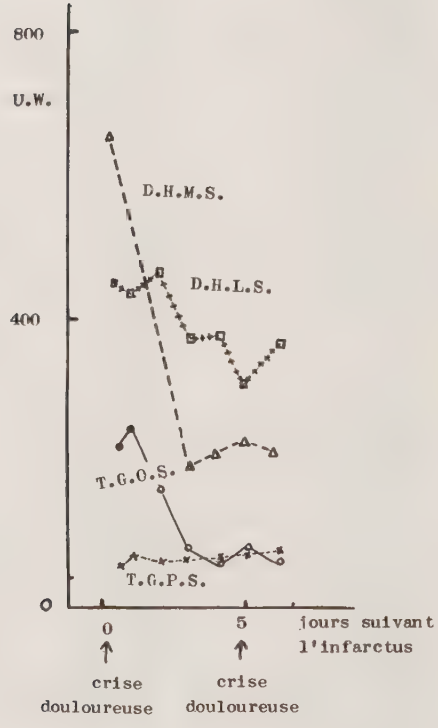
Activite fermentaire U.S.W.

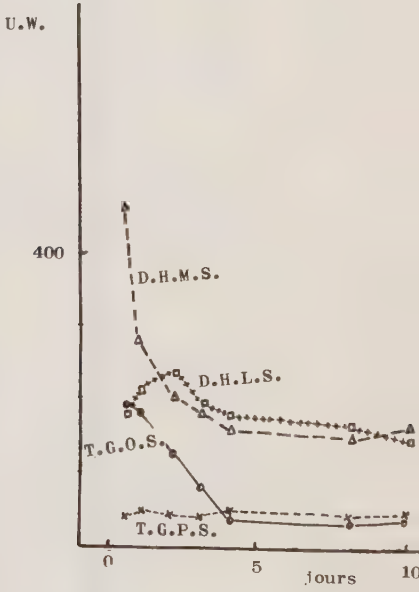
+ premier prélèvement
• prélèvement ultérieur



Figure

Activités T.C.O.S., T.G.P.S., D.H.L.S., D.H.M.S.
en cas d'infarctus du myocarde





Activité enzymatique transaminasique et deshydrogénasique dans les affections cardio-vasculaires sans lésion musculaire.

En dehors de la nécrose myocardique, les affections cardio-vasculaires sans lésion musculaire influencent-elles le taux des transaminases et deshydrogénases sériques ?

Angine de poitrine et insuffisance coronarienne.

Au cours de l'angine de poitrine et de l'insuffisance coronarienne, les valeurs de l'activité sérique de la transaminase glutamique oxaloacétique restent normales ou à la limite supérieure. A l'origine, LA DUE et WROBLEWSKI (88), dans une étude de trente-six cas, rapportent vingt et un résultats normaux; quinze sont élevés; néanmoins, il n'existe aucune preuve de présence ou absence d'infarctus. KATTUS et ses collaborateurs (81) observent vingt quatre cas et notent une élévation de la T.G.O.S. chez quatre sujets; cependant, aucun résultat ne dépasse 57 unités. Sur soixante neuf cas, CHINSKY (29) note soixante quatre valeurs normales. Cinq sont à la limite supérieure; SHABETAI (139), HOEVENAARS (70), WHITE (163), RATNOFF et SACKS (124), MOORE (107) retrouvent tous des valeurs normales.

Vis-à-vis de la T.G.O.S. où nous avons relevé, pour huit cas, sept résultats normaux et un à la limite supérieure, la transaminase glutamique pyruvique du sérum ne subit aucune variation dans nos mêmes huit cas. La deshydrogénase lactique du sérum, dont l'activité a été évaluée chez cinq de nos huit malades, reste normale, de même la deshydrogénase malique.

Péricardites et myocardites.

Les péricardites ne s'accompagnent pas d'augmentation du taux des transaminases sériques (29, 41, 70, 81, 90, 107, 163), ni des deshydrogénases lactique et malique du sérum. Quant aux myocardites, nous avons étudié quinze cas chroniques, les transaminases sériques glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique, restent normales 15 fois sur 15; la D.H.L.S. normale dans 13 cas, s'approche deux fois de la limite supérieure; sur 5 évaluations, l'activité D.H.M.S. est normale quatre fois, subnormale une fois (figure 5).

Rhumatisme articulaire aigü

Une élévation au cours du rhumatisme articulaire aigü des enzymes sériques traduit l'existence d'une atteinte aigüe du myocarde avec destruction cellulaire (35). Très souvent, cependant, l'origine n'en est que l'administration de médicaments susceptibles de provoquer une atteinte hépatique; l'aspirine ou le salicylate de sodium (96). La distinction est facile : la transaminase glutamique pyruvique du sérum, normale dans le premier cas, s'élève dans le second.

Activité fermentaire dans les accidents vasculaires cérébraux

Dans les accidents vasculaires cérébraux, la transaminase glutamique oxaloacétique du sérum est en général normale. Par contre, elle serait régulièrement élevée dans le liquide céphalo-rachidien au cours des hémorragies et des abcès du cerveau (22, 55).

Activité diastasique dans les accidents vasculaires pulmonaires.

L'embolie pulmonaire ne semble avoir aucun retentissement sur les taux de la transaminase glutamique oxaloacétique du sérum (2, 41, 49, 61, 82, 84, 124). Toutefois, OSTROW et ses collaborateurs (115) ont noté sept fois sur quinze cas une élévation tardive de cet enzyme dans le sérum. Sur trois cas étudiés (figure 5), le sang étant prélevé 1 à 3 jours après la lésion, nous-même avons observé une T.G.O.S. modérément augmentée dans 2 cas sur les 3. La transaminase glutamique pyruvique du sérum reste inchangée. Dans un des cas à T.G.O.S. élevée et dans celui à T.G.O.S. normale ont été évaluées nos deux deshydrogénases; alors que dans le 2ème cas, la D.H.L.S. est subnormale, elle ne subit aucune modification dans le premier; quant à la D.H.M.S., c'est le contraire que nous avons noté: un accroissement de son activité dans le cas à T.G.O.S. élevée, un résultat normal dans l'autre, un parallélisme avec la transaminase glutamique oxaloacétique.

L'évaluation de l'activité enzymatique transaminasique glutamique oxaloacétique et deshydrogénasique lactique et malique du sérum présente un intérêt certain et évident; elle voit son importance surtout dans l'infarctus du myocarde et

notamment là où l'électrocardiogramme est ininterprétable ou muet. En principe, toute lésion aigüe du myocarde se traduit par :

- une élévation des activités sériques T.G.O., D.H.L. et D.H.M., cette augmentation se manifestant nettement quelques heures après l'accident,
- un maximum des taux sériques de ces enzymes entre la 12ème et 48ème heure suivant l'infarcissement. Alors que la T.G.O.S. peut atteindre 500 Unités spectrophotométriques Wroblewski, la D.H.M.S. s'élève à 600 ou 800 et la D.H.L.S. jusqu'à 1200. De plus, comparée aux deux premières, cette dernière ne revient que tardivement à la normale.

Un taux élevé prolongé révèle une lésion étendue et est d'un prognostic grave. Inversement, un taux modéré n'implique pas forcément un pronostic favorable, bien que la nécrose paraisse peu importante.

Le choc, la localisation de l'infarctus, l'âge, le sexe, le poids, la température du sujet, l'administration d'anticoagulants, n'auraient aucun effet direct sur l'augmentation des activités enzymatiques du sérum.

B. - TRANSAMINASES GLUTAMIQUE OXALOACETIQUE ET GLUTAMIQUE PYRUVIQUE RT DESHYDROGENASES LACTIQUE ET MALIQUE EN PATHOLOGIE HEPATO-BILIAIRE

Les affections hépato-biliaires sont susceptibles de modifier l'activité sérique transaminasique glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique et deshydrogénasique lactique et malique.

Données générales.

Ce sont les constatations de MOLANDER, WROBLEWSKI et LA DUE (106, 170, 171, 174) et de DE RITIS (42) qui sont à la base des études du comportement des transaminases dans les affections hépatiques. Travaillant d'abord sur la transaminase glutamique oxaloacétique du sérum, WROBLEWSKI et LA DUE ont attiré ultérieurement l'attention sur le dosage de la transaminase glutamique pyruvique sérique (172). Les lésions du parenchyme hépatique provoquent, en effet, une forte augmentation du taux sérique de cette transaminase glutamique-pyruvique, presque exclusivement d'origine hépatique, alors que la transaminase glutamique oxaloacétique est commune au coeur, foie,et muscles du squelette.

HESS et ses collaborateurs (67, 68, 69), WROBLEWSKI (166), WEST et ZIMMERMANN (162), VESELL et BEARN (153) déterminent l'activité sérique des deshydrogénases lactique et malique dans les affections hépatiques et en tirent des conclusions intéressantes. Ils étudient les caractères physico- chimiques des apoenzymes et les comparent à ceux des deshydrogénases sériques dosées lors des accidents cardio-vasculaires. Observant des propriétés différentes suivant leur origine , ils concluent à la multiplicité de ces ferments.

Observations expérimentales.

Les observations expérimentales, qui intéressent surtout les transaminases, portent soit sur des hépatites virales, soit sur des hépatites consécutives à l'administration d'un toxique.

Hepatites toxiques.

MOLANDER, WROBLEWSKI et LA DUE (106), ont administré à des rats de 200 gr., répartis en plusieurs lots, des doses variables de tétrachlorure de carbone et étudié le comportement de la transaminase glutamique oxaloacétique sérique (dont le taux physiologique est situé entre 170 et 350 unités spectrophotométriques). Ils constatent un parallélisme entre l'importance et la durée de l'élévation du taux sérique de ce ferment et la quantité de toxique administré. De plus, les modifications de la T.G.O.S et l'intensité des lésions nécrotiques hépatiques varient dans le même sens.

FLEISHER et WAKIM (54) ont étudié les variations des transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique sériques chez le chien soumis à une intoxication par le tétrachlorure de carbone. Ils notent une élévation des deux enzymes; mais alors que la T.G.O.S. s'élève rapidement pour revenir très vite à la normale, la T.G.P.S. augmente plus tardivement; son élévation est beaucoup plus forte et nettement plus prolongée.

BISERTE (16) rapporte des travaux de BURLINA et LIPPI. Ces auteurs ont observé au cours d'une hépatite toxique provoquée chez le cobaye par du phosphore, une augmentation des mêmes enzymes. Etablissant le rapport T.G.O.S. / T.G.P.S., ils ne constatent aucune modification importante.

Réalisant une hépatite toxique chez le lapin par administration de tétrachlorure de carbone, BOIVIN et collaborateurs (17) font des constatations identiques à celles de BURLINA et LIPPI.

Hépatites virales.

FRIEND et collaborateurs (57) ont réalisé des hépatites virales expérimentales chez la souris; l'élévation de la transaminase glutamique oxaloacétique dans le sérum est proportionnelle à la dose de virus inoculé, au titre du virus dans le sang circulant et à l'importance des lésions de nécrose hépatique.

DE RITIS (43), au cours d'expériences analogues , observe une forte élévation des deux enzymes.

Action de l'alcool sur les transaminases hépatiques.

Expérience réalisée par HENLEY et ses collaborateurs (65), ceux-ci ont observé une baisse de l'activité transaminasique glutamique pyruvique dans le foie de rats soumis à l'ingestion d'alcool.

Les élévations de l'activité enzymatique sérique, élévations en rapport avec la destruction du parenchyme hépatique, se retrouvent en pathologie humaine.

Observations cliniques.

Hépatites toxiques.

MOLANDER, WROBLEWSKI et LA DUE (106), dans deux cas d'intoxication humaine au tetrachlorure de carbone, observent une montée des transaminases sériques. Dans les 48 heures qui ont suivi l'intoxication, la T.G.O.S. s'est élevée à 27.840 unités spectrophotométriques, la T.G.P.S. à 12.300.

L'aspirine et le salicylate de sodium entraînent une élévation des transaminases sériques (96). Il en est de même pour l'azasérine (167), la pyrazinamide (167), le cincophène (169), l'alcool éthylique (4, 10), l'iproniazide (118), le plomb (156), la bishydroxycoumarine (175), la morphine (108) et de nombreux autres agents (56). La chlorpromazine peut provoquer des hépatites toxiques très graves avec accroissement important de l'activité des transaminases sériques (140, 173). Deux cas d'intoxication à la chlorpromazine nous ont fourni des résultats très élevés, les ferments ayant atteint des valeurs égalant 60 à 100 fois leur taux physiologique (figure 7).

Hépatites infectieuses.

Dans les hépatites virales de l'homme, l'élévation dans le sérum des transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique et des deshydrogénases lactique et malique est de règle. Leurs taux peuvent devenir considérables. Nous avons pu noter des activités T.G.O.S. de 1500 à 3500 unités spectrophotométriques Wroblewski, T.G.P.S. et 1500 à 2000 dans les premiers jours de l'infection. L'augmentation est précoce, précédant d'une à plusieurs semaines l'apparition de l'ictère (1, 11, 15, 17, 29, 45, 46, 72, 95, 96, 102, 107, 116, 117,

122, 167, 169); au bout de 4 à 5 semaines, soit la 4ème semaine de l'ictère, les activités sériques - s'il y a evolution favorable seront réduites de moitié (d'habitude 300 à 500 unités spectrophotométriques Wroblewski pour la T.G.O.S., 400 à 600 pour la T.G.P.S.). Les deshydrogénases sériques malique et lactique voient leur activité accrue, mais l'accroissement de leur activité, quoiqu'il se prolonge aussi longtemps qu'il y a perturbation de la transaminasémie G.O. et G.P. est beaucoup moins important. La D.H.L.S. oscille autour de 400 à 450 unités spectrophotométriques Wroblewski, la D.H.M.S. autour de 350. Voici nos chiffres résumés dans le tableau III et la figure 7.

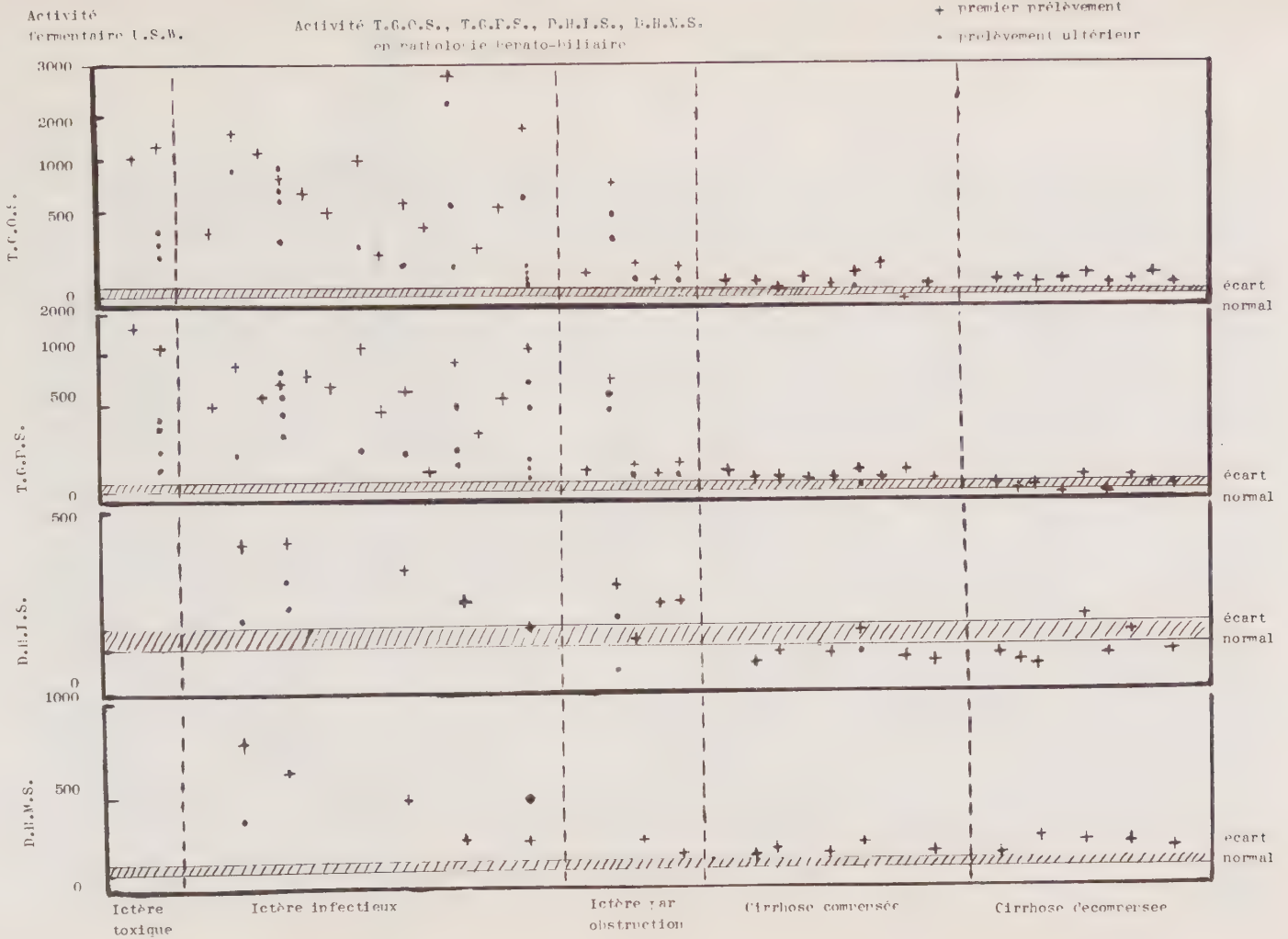
TABLEAU III

ACTIVITE ENZYMATIQUE SERIQUE DANS LES HEPATITES AIGUES

UNITES SPECTROPHOTOMETRIQUES WROBLEWSKI

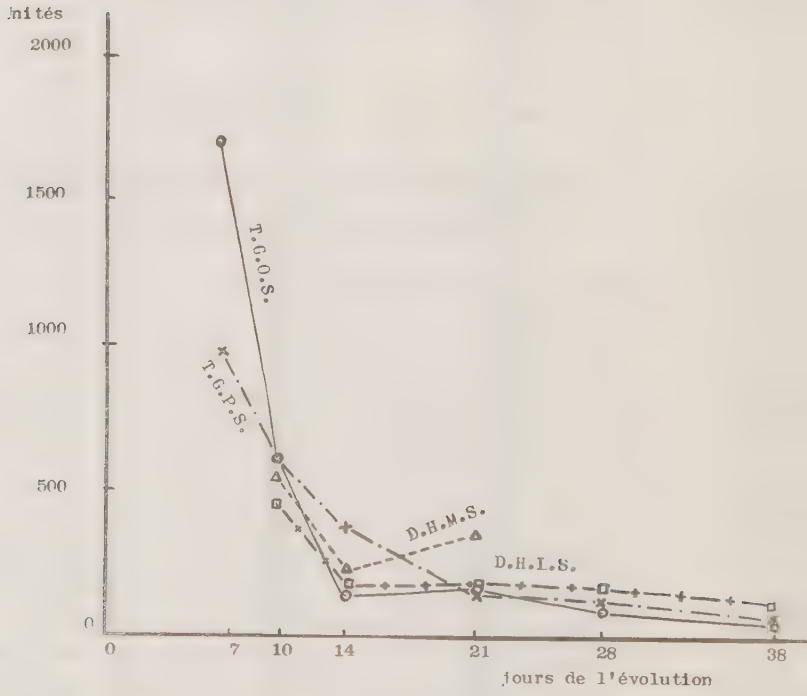
T.G.O.			T.G.P.			D.H.L.			D.H.M.		
> 61	60 46	45 10	> 46	45 36	35 5	> 201	200 176	< 175	> 141	140 120	< 119
16	-	-	16	-	-	3	2	2	5	-	-

Comme l'a rapporté DE RITIS (44), le rapport T.G.O.S./T.G.P.S. voisin de 1,33, est inversé. Cependant, au début la T.G.O.S. reste transitoirement supérieure à la T.G.P.S. Au moment de la guérison, le rapport reprend sa valeur normale. Plusieurs phénomènes régiraient cette inversion : une modification dans le mécanisme de la synthèse hépatique des transaminases, la différence des durées de vie plasmatique des deux diastases. La synthèse hépatique des transaminases semble être perturbée: AMELUNG et HORN (72) admettent que l'élaboration de la T.G.O. serait fortement entravée, celle de la T.G.P. exaltée. En ce qui concerne la différence de durée de vie plasmatique des deux ferments, DUNN, MARTINS et REISSMANN (48) rapportent que la T.G.O. disparaît beaucoup plus rapidement que la seconde; c'est la diversité de leurs poids


Activité fermentaire I.S.W.
Activité T.G.O.S., T.G.P.S., D.H.I.S., D.H.M.S. en pathologie hépato-biliaire
+ premier prélèvement
• prélèvement ultérieur
T.G.O.S.
3000
2000
1000
500
0
T.G.P.S.
2000
1000
500
0
D.H.I.S.
500
0
D.H.M.S.
1000
500
0
écart normal
écart normal
écart normal
écart normal
Ictère toxique
Ictère infectieux
Ictère par obstruction
Cirrhose compensée
Cirrhose décompensée

figur

Evolution de la T.G.O.S., T.G.P.S., D.H.L.S.
et D.H.M.S. dans une hépatite infectieuse



moléculaires qui pourrait etre à l origine de ces variations du séjour sanguin (63). D'après BOIVIN, interviennent encore la sensibilité des dosages et la vitesse de libération de deux transaminases par les cellules hépatiques (17).

BOIVIN et ses collaborateurs (17) n'ont pas trouvé de parallélisme entre l élévation de la transaminasémie et la perturbation d'autres épreuves fonctionnelles du foie (bilirubinémie, chute du rapport d'estérification du cholestérol, déficit en éléments du complexe prothrombique, réactions de floculation). Alors que les signes biologiques d insuffisance cellulaire hépatique reviennent à la normale bien avant les transaminases sériques, les réactions de floculation ne se normalisent souvent que plus tard. Les courbes évolutives de la transaminasémie et de la sidérémie discordent.

Nous avons étudié l'évolution des activités sériques T.G.O., T.G.P., D.H.L. et D.H.M. dans deux cas d'ictère par hépatite. Nous avons comparé nos valeurs à la bilirubinémie et aux tests de floculation de HANGER et de MAC LAGAN. Le taux de bilirubine sérique revient à la normale longtemps avant les ferments, les réactions de floculation sont inconstantes. Seules les évolutions des transaminasémies et deshydrogénasémies concordent (figure 8).

Cirrhoses.

Dans les cirrhoses, nous constatons, en accord avec la plupart des auteurs, une augmentation des transaminases G.O.S. et G.P.S.. L'activité sérique D.H.L. varie très peu ; par contre la D.H.M.S. semble perturbée. BING (13), BISERTE (16), BOIVIN (17), CHINSKY (29), DE RITIS (42), DONATO (45), DUBACH (46), HOEVENAARS (70), HORN et AMELUNG (72), MADSEN, BANG, IVERSEN (95), MOLANDER, WROBLEWSKI, LA DUE (106, 169, 170, 172), MOORE (107), PAGET (116, 117), PRYSE DAVIES (122), décrivent tous ces élévations. Quoique modérées, elles sont néanmoins perceptibles, surtout en ce qui concerne l'activité T.G.O.S. et D.H.M.S. et plus nettement encore au cours des poussées aigues. WROBLEWSKI et LA DUE (170), dans une première étude de vingt-huit cas, rapportent huit résultats normaux; quatorze sont à la limite supérieure (41 à 100 unités) et six sont élevés. CHINSKY (29), sur quinze cas d'hépatite chronique, note dix élevations de la T.G.O.S. (120 unités) et sur

ces dix, six présentent une T.G.P.S. augmentée (60 unités). MOLANDER (106), avec la collaboration de WROBLEWSKI et LA DUE observe quatre vingt et une cirrhose de Laennec; la transaminase sérique glutamique oxaloacétique y oscille entre 13 et 286 unités. BING (13) décrit une élévation de la D.H.M.S.. BOIVIN (17) étudie un large groupe de malades; dans les cirrhoses éthyliques, la T.G.O.S. est élevée dans 90 % des cas alors que la T.G.P.S. ne l'est qu'une fois sur deux; l'élévation cependant est modérée; dans les cirrhoses posthépatiques l augmentation est constante pour les T.G.O.S. et T.G.P.S.. Les cirrhoses bronzées (hémochromatoses) donnent des chiffres du même ordre que ceux observés dans les cirrhoses éthyliques.

Nos études personnelles ont porté sur 20 cas de cirrhoses. Dix sont des cirrhoses éthyliques décompensées, les dix autres des cirrhoses compensées. Nos résultats sont résumés dans le tableau IV et la figure 7.

TABLEAU IV

Diagnostic	Activité enzymatique sérique Unités spectrophotométriques Wroblewski											
	T.G.O.			T.G.P.			D.H.L.			D.H.M.		
	> 61	60 46	45 10	> 46	45 36	35 5	> 201	200 176	< 175	> 141	140 120	< 119
Cirrhoses éthyliques décompensées	9	-	1	3	4	3	-	2	5	4	1	-
Cirrhoses compensées	8	1	1	4	4	2	-	1	5	3	1	-

La T.G.O.S. est augmentée dans 90 % des cirrhoses éthyliques décompensées et 80 % des hépatites chroniques compensées, la T.G.P.S. dans 30 % des premières et 40 % des secondes. Les modifications cependant ne sont guère importantes. La D.H.L. S. voit son activité inchangée. La D.H.M.S. est élevée dans les deux cas; dans les affections décompensées, son activité avoisine le double de celle des cirrhoses compensées.

Selon MADSEN et ses collaborateurs (95), l'éthiologie de la cirrhose n'influe pas sur les taux de la T.G.O.S. et T.G.P.S.. Nous-même ne constatons aucune relation nette entre la nature de l'atteinte et l'élévation de l'activité transaminasique sérique. Les travaux de BOIVIN (17) par contre, aboutissent à une conclusion différente : l'élévation souvent très importante de la T.G.P.S. dans les cas de cirrhose post hépatique contraste avec ce que l'on observe dans les cirrhoses alcooliques. Le dosage de l'activité T.G.P.S. possède donc un intéret certain pour le diagnostic éthiologique de la cirrhose. Nous ne nous permettons qu'une conclusion générale : les cirrhoses entrainent souvent une élévation de l'activité transaminasique sérique G.O. alors qu'une augmentation de l'activité T.G.P.S. reste discutable.

Quant aux deshydrogénases, l'activité sérique de la D.H.L. n'est nullement augmentée dans les cirrhoses. Au contraire, les valeurs notées sont extrêmement faibles Ce fait est peut être la conséquence d'une altération du mécanisme de synthèse pour reprendre une hypothèse d AMELUNG et HORN. Inversement, l'élaboration dans le foie de la D.H.M. pourrait être exaltée puisque les élévations sériques sont très importantes, surtout dans les cas décompensés. Mais peuvent encore intervenir des durées de vie plasmatique variables avec l'enzyme ou des modifications dans la libération des ferments par les cellules hépatiques.

Cancers du foie.

Alors que l'activité transaminasique G.O. et G.P. du sérum est modérément augmentée dans la plupart des cancers primitifs ou secondaires du foie (29, 30, 167, 171) les deshydrogénases sériques sont très fortement élevées, surtout la deshydrogénase lactique. L'élévation de la transaminasémie serait même proportionnelle au développement de la tumeur. Nous avons pu observer un cas ; voici nos valeurs :

- activité T.G.O.S. = 70 unités spectrophotométriques Wroblewski
- " T.G.P.S. = 27 " " "
- " D.H.L.S. =354 " " "

soit des résultats concordant avec la littérature.

Ictères par obstruction.

Dans cinq cas d'obstruction des voies biliaires nous avons observé une augmentation des transaminases et deshydrogénases sériques (figure 7). Cette élévation a déjà été décrite par d'autres auteurs (17, 29, 95, 167, 172, 174). L'accroissement est modéré et 7 à 14 jours après la levée de la rétention, les taux enzymatiques du sérum reviennent à la normale. MADSEN (95) affirme que le taux de la T.G.O.S. est normal en l'absence d'infection des voies biliaires. De même PAGET (116) décrit une transaminasémie normale dans les ictères mécaniques. L'élévation de l'activité enzymatique est-elle la conséquence d'une nécrose dont l'origine réside dans des lésions parenchymateuses qu'engendre la stase, comme le montre BOIVIN (17) ? Ou, au contraire, s'agit-il d'une perturbation de la perméabilité cellulaire à l'égard des enzymes cytoplasmiques? Nous pouvons l'envisager également à la suite de DEBRE, SHAPIRA et collaborateurs (que cite BOIVIN 17) qui parlent de ce trouble dans leur étude des transaminases et aldolases sériques au cours des polycories glycogénétiques.

L'élévation de l'activité fermentaire sérique transaminasique glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique et deshydrogénasique lactique et malique renseigne sur l'état du parenchyme hépatique dans les affections hépato-biliaires. Ces déterminations sont à la base de la distinction des diverses atteintes : affections aiguës toxiques ou virales, affections cancéreuses. Finalement le degré de l'élévation permet de juger de la sévérité de l'atteinte du parenchyme.

La détermination de l'activité sérique de ces diastases est d'un intérêt primordial. Bien que non spécifiques parce qu'elles sont pratiquement répandues dans tout l'organisme, ces enzymes sont quand même à la base des diagnostics des lésions parenchymateuses. C'est la multiplicité des tests qui compense l'absence de leur spécificité. En effet, l'élévation sérique relative des différents ferments libérés par la cytolyse varie avec l'organe frappé par la nécrose; ainsi dans les infarctus du myocarde, l'activité

D.H.M.S. > D.H.L.S. > T.G.O.S. > T.G.P.S.

les cirrhoses .

D.H.M.S. > T.G.O.S. > T.G.P.S. > D.H.L.S.

les ictères toxiques et infectueux :

T.G.P.S. > T.G.O.S. > D.H.L.S. = D.H.M.S.

(alors qu'au début et à la fin de l'affection, le schéma s'établit ainsi :

T.G.O.S. > T.G.P.S. > D.H.L.S. = D.H.M.S.

les ictères par rétention :

T.G.O.S. > T.G.P.S. > D.H.L.S. > D.H.M.S.

Les résultats que nous avons vus dans un grand nombre de cas pathologiques s'accordent parfaitement avec ceux obtenus par de nombreux auteurs avant nous.

TROISIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE :

TRANSAMINASES GLUTAMIQUE-OXALOACETIQUE ET GLUTAMIQUE-PYRUVIQUE ET DESHYDROGENASES LACTIQUE ET MALIQUE DANS LE SERUM ET LES TISSUS DU RAT.

Bien qu'elles agissent en quantités infimes, les diastases constituent une fraction importante des protides tissulaires. Ainsi, on pense que dans le foie environ 60% des protéines cellulaires sont des ferments (LANG, cité par RYSER et ses collaborateurs - 131). On doit donc admettre que toute perturbation de la synthèse des protéines tissulaires influera directement sur la teneur de l'organe en ferments. La richesse en biocatalyseurs de l'organisme diminuera soit lorsque le mécanisme d'élaboration de ces protéines est perturbé, soit lorsqu'il y a carence dans l'apport en matériaux indispensables à leur synthèse.

Nous nous sommes proposé d'étudier ces phénomènes chez le rat à l'aide des activités transaminasiques glutamique - oxaloacétique et glutamique - pyruvique et deshydrogénasiques lactique et malique du sérum et des tissus hépatique et cardiaque. Par inhalation de vapeurs de tetrachlorure de carbone on établit une hépatite expérimentale qui perturbe essentiellement la fonction de synthèse des enzymes; le jeûne protidique et surtout le jeûne absolu entraînent principalement une carence dans l'apport en matériaux d'élaboration.

Un même lot de rats mêmes de la race WISTAR COMMENTRY est divisé en quatre groupes. Le premier est soumis aux inhalations de tetrachlorure de carbone, le second au jeûne protidique, le troisième au jeûne total; alors qu'une partie de ce dernier subit une réalimentation normale, le quatrième groupe constitue les témoins.

ACTIVITE DES TRANSAMINASES GLUTAMIQUE OXALOACETIQUE ET GLUTAMIQUE PYRUVIQUE ET DESHYDROGENASES LACTIQUE ET MALIQUE DANS LE SERUM ET LE PARENCHYME HEPATIQUE DU RAT PRESENTANT UNE HEPATITE EXPERIMENTALE PAR INHALATION DE TETRACHLORURE DE CARBONE

L'intoxication par des inhalations répétées de vapeurs de tétrachlorure de carbone provoque une hépatite. A la suite d'un traitement de longue durée, les hépatocytes détruits ne sont plus régénérés. La nécrose s'étend de plus en plus et s'aggrave même du fait de la réduction dans l'apport alimentaire, consécutive à un manque d'appétit (en relation d'ailleurs avec le degré de l'intoxication). La lyse cellulaire provoque une fuite des ferments vers le milieu circulant où leur teneur s'élève alors qu'elle s'abaisse dans le foie lui-même.

Conduite de l'expérience.

L'hépatite expérimentale est réalisée sur dix rats d'un poids moyen de 262 grammes, soumis deux à trois fois par semaine à des séjours dans une atmosphère chargée en tétrachlorure de carbone. L'expérience a lieu à la température du laboratoire. Les animaux sont placés dans une enceinte étanche de 120 litres environ dans laquelle est suspendue dans la partie supérieure une cupule plate. Dans celle-ci, on verse 10 ml de tétrachlorure de carbone qui s'évapore lentement durant les 45 minutes que dure chaque expérience. L'intoxication est menée très prudemment et dure six mois.

Au début les animaux ne présentent pas de troubles apparents. Vers la fin, ils ne s'alimentent plus que très peu. A l'autopsie, leur foie est volumineux, coloré en jaune; la surface de l'organe est irrégulièrement granuleuse, boeselée et couverte de nodules graisseux de taille variable; la rate est grosse. Quelques sujets présentent de l'ascite. Le plus gravement atteint a présenté une forte poussée ictérique, son sérum étant intensément pigmenté et jaune.

Les animaux sont sacrifiés par décapitation. Le sang est prélevé et centrifugé aussitôt après la coagulation; le sérum est décanté. L'autopsie a lieu immédiatement; les organes sont prélevés, pesés, puis congelés à -20 ° C. Au moment du dosage, une quantité déterminée d'organe est finement broyée à l'aide de l'ULTRA TURRAX TP 18/2 et mise en suspension dans du sérum physiologique; les titres finaux sont d'environ 1 gramme pour 200 ml.

Pour la détermination des activités fermentaires, les précédentes suspensions et le sérum sont dilués à nouveau à l'aide de solution tampon de façon à satisfaire aux conditions requises par nos techniques.

Les protéines totales sériques et tissulaires sont évaluées colorimétriquement à l'aide du réactif au biuret de WEICHSELBAUM.

Résultats.

Les valeurs moyennes de nos dosages sont groupées dans le tableau V et la figure 9.

La plupart de nos résultats sont homogènes et les écarts sont faibles sauf pour un animal. Ce rat présentait un ictère et nous avons trouvé des activités enzymatiques sériques très perturbées; en effet, sa T.G.O.S. s'élève à 1625 Unités spectrophotométriques Wroblewski, sa T.G.P.S. à 200; alors que son activité D.H.M.S. est de 1200 Unités spectrophotométriques Wroblewski, sa D.H.L.S. monte à 2370. Ces valeurs dépassent de loin, sauf pour la D H.M.S., celles mesurées chez les autres rats cirrhotiques. Il nous a donc semblé utile afin de ne pas perturber les moyennes obtenues sur les autres animaux, de calculer les résultats à l'aide des neuf animaux restants. Cette nouvelle moyenne est comparée aux résultats normaux dans le tableau V.

Discussion des résultats.

L'intoxication au tétrachlorure de carbone entraîne une atteinte hépatique grave avec nécrose cellulaire. Il s'en suit une perturbation physiologique de cet organe, consécutive à la lyse des hépatocytes. La synthèse des protéines et par là des enzymes protéiques est fortement réduite. Ce défaut de synthè-

se s'aggrave encore par suite d'une fuite des diastases vers le sang circulant. Notre tableau explicite ces idées : à côté d'une élévation des enzymes sériques, sauf de la D.H.L.S., nous notons une chute de l'activité des transaminases hépatiques et des protéines de cet organe; par contre, celles des deshydrogénases du foie restent normales. Les comportements abérrants de ces dernières et de la D.H.L. sérique s'accordent avec les résultats déjà trouvés sur l'homme et peuvent peut-être s'expliquer de la même façon : exaltation de la synthèse hépatique des deshydrogénases au cours de telles lésions du foie et perturbation variable de la libération cellulaire de ces enzymes dans le sérum. La localisation de ces ferments sur les organites ou à l'intérieur de la cellule explique peut-être ces différences de comportement.

Ajoutons que les valeurs observées sur le tissu hépatique sont influencées par un facteur non négligeable : l'hypertrophie du foie. Atteignant 50% du poids initial, elle a pour causes l'inflitration et la fibrose du tissu conjonctif. Si nous tenons compte de ce phénomène, nos activités enzymatiques tissulaires remontent vers la normale, et même la dépassent s'il s'agit des deshydrogénases. Toutefois, le tissu fibreux ou infiltré possède certainement des activités enzymatiques propres qui empêchent toute évaluation de l'activité propre aux hépatocytes.

Du fait de l'hypertrophie, il résulte que, dans le foie, les transaminases ne diminuent pas considérablement et que les deshydrogénases restent constantes. Nous rejoignons alors les conclusions de SCHMIDT (135, 136, 137, 138) et de RYSER et FREI (129) qui ont observé une constance des T.G.O., D.H.L et D.H.M. hépatiques dans les cirrhoses chez l'homme et chez l'animal.

La déperdition hépatique, qui se traduit par une augmentation de la plupart des activités fermentaires du sérum, n'influe donc pas grandement sur la teneur en enzymes du foie. Il est vrai que, l'hépatocyte étant riche en transaminases et deshydrogénases, une lésion minime peut provoquer des modifications importantes au niveau du sérum (normalement pauvre en diastases) et infimes sur le tissu hépatique entier. D'autre part, des hypertrophies compensatrices peuvent masquer cette diminution.

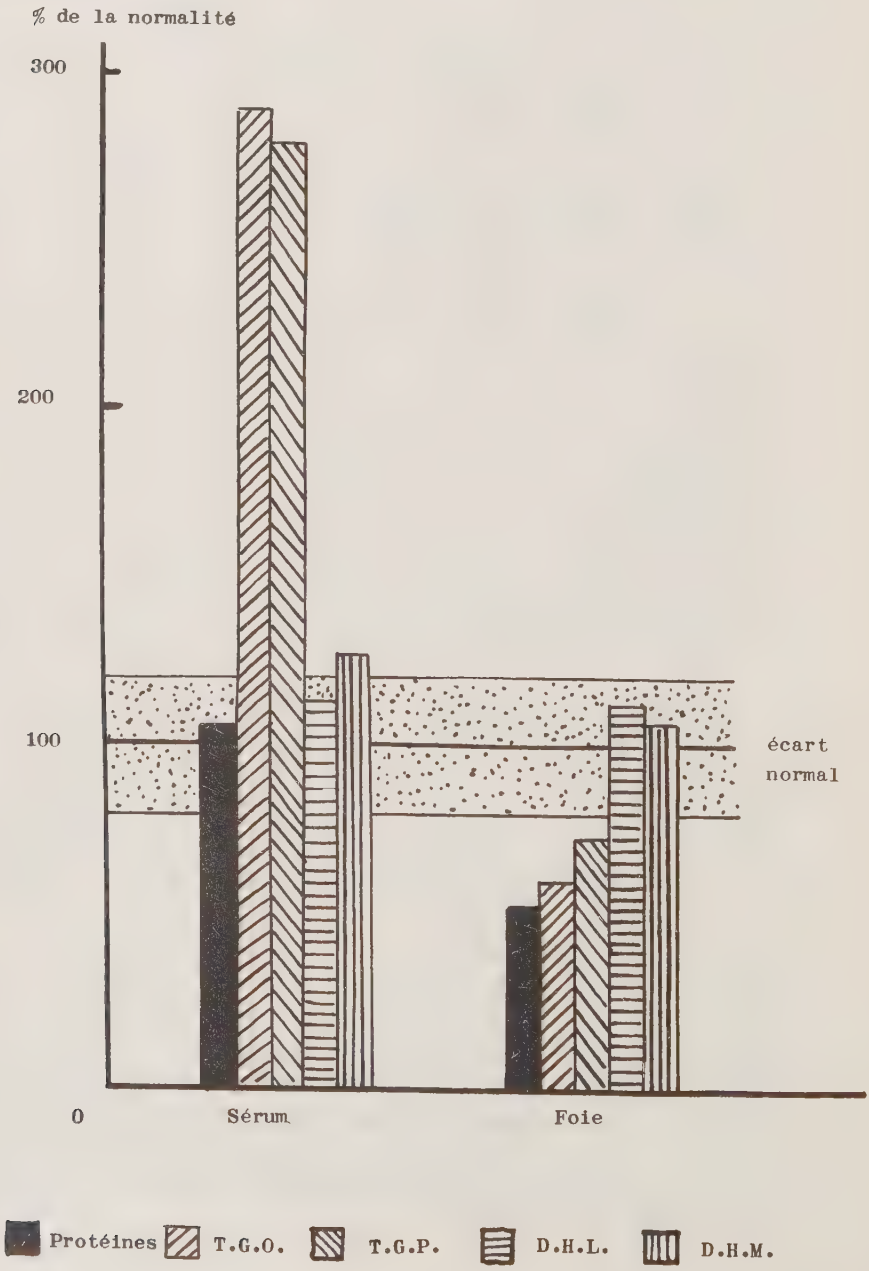
TABLEAU V

	Nbre d'animaux	Protéines sériques	Activité enzymatique sérique U.S.W.				Poids foie/ 100 gr. animal	Protéines hépatiques	Activité enzymatique hépatique U.S.W.			
		gr. %	TGO	TGP	DHL	DHM		gr. %	T.G.O.	T.G.P.	D.H.L.	D.H.M.
Témoins	10	7,0 ± 1,0	220 + 75	45 + 7	1250 +150	1180 ±200	3,97 ± 0,06	19,9 + 3,0	220.000 ± 50.000	50.000 + 8.000	590.000 ±100.000	555.000 ±120.000
Intoxiqués	10	7,6	625	125	1460	1470	5,97	12,1	127,000	37.000	690.000	600.000
Intoxiqués	9	7,4 + 0,8	430 ±120	105 ±30	1230 +100	1540 ±200	5,99 ± 0,08	12,3 ± 2,3	125.000 ± 30.000	37.000 ± 6.000	685.000 ±120.000	600.000 ±150.000

Activité des T.G.O., T.G.P., D.H.L. et D.H.M. et protéines hépatiques et sériques au cours de l'hépatite expérimentale chez le rat

Figure 9

Activités T.G.O., T.G.P., D.H.L., D.H.M. et Protéines hépatiques et sériques au cours de l'hépatite expérimentale du rat



ACTIVITE DES TRANSAMINASES GLUTAMIQUE OXALOACETIQUE ET GLUTAMIQUE PYRUVIQUE ET DESHYDROGENASES LACTIQUE ET MALIQUE DANS LE SERUM ET LES TISSUS CARDIAQUE ET HEPATIQUE DU RAT AU COURS DU JEUNE PROTIDIQUE

En dehors des troubles de la cellule hépatique, nous avons voulu étudier les modifications des enzymes tissulaires et sériques provoquées par le manque d'apport en matériau nécessaire à leur élaboration, et ce, par le jeûne protidique.

Conduite de l'expérience

La marche opératoire de l'expérience rejoint celle qu'ont adopté WARTER, ASCH et ARON dans leur étude des fonctions thyréotrope et gonadotrope préhypophysaires au cours du jeune protidique chez le rat (158).

Dix animaux pesant entre 200 et 245 grammes (moyenne 224) reçoivent à volonté de l'eau et du régime ne comprenant pratiquement aucun constituant azoté. Voici sa composition :

Saindoux	g. 10,000
Sucre	g. 20,000
Amidon pur	g. 66,500
Mélange salin de TERROINE (147)	g. 3,500
Vitamine A	U.I. 6 000
Vitamine B_1	g. 0,005
Vitamine B_2	g. 0,002
Amide nicotinique	g. 0,020
Pantothénate de calcium	g. 0,003
Vitamine B_6	g. 0,002
Vitamine D	U.I. 1 500
α - tocophérol	g. 0,010
Citrate de choline	g. 0,050

L'expérience dure 45 jours; les animaux sont tués comme plus haut après 25, 35 et 45 jours.

Résultats

Les animaux perdent jusqu'à 50% de leur poids initial (figure 10). Les protéines baissent régulièrement (tableau VI ;

Figure 10

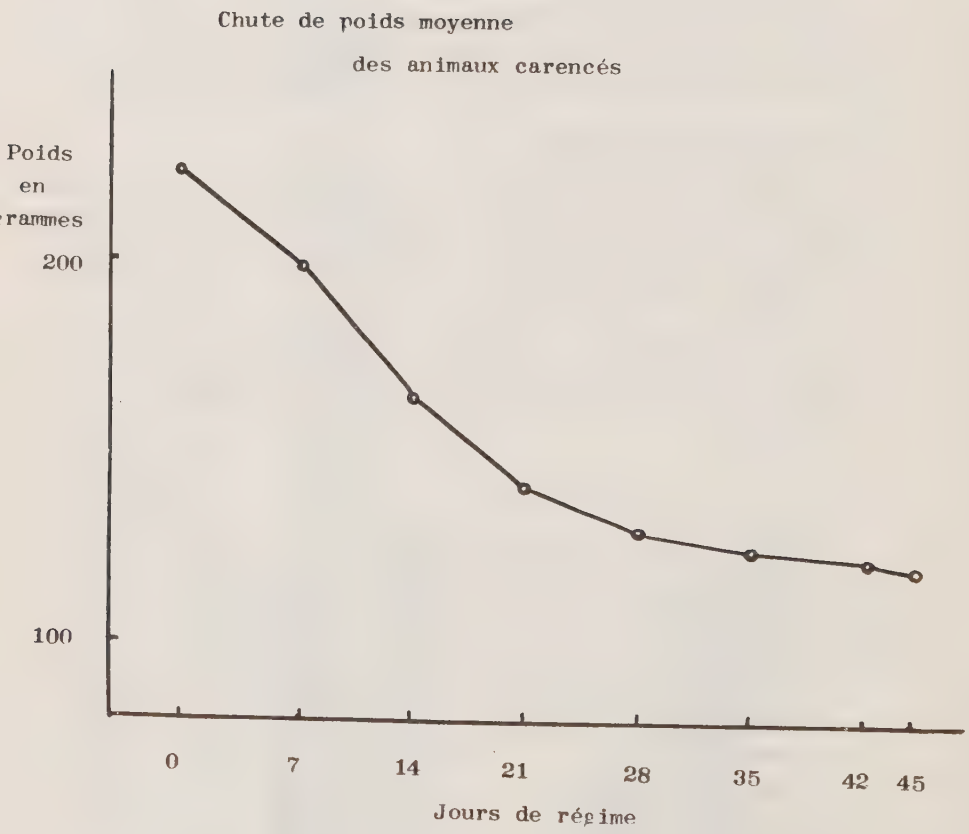

Chute de poids moyenne
des animaux carencés
Poids
en
rammes
200
100
0
7
14
21
28
35
42
45
Jours de régime

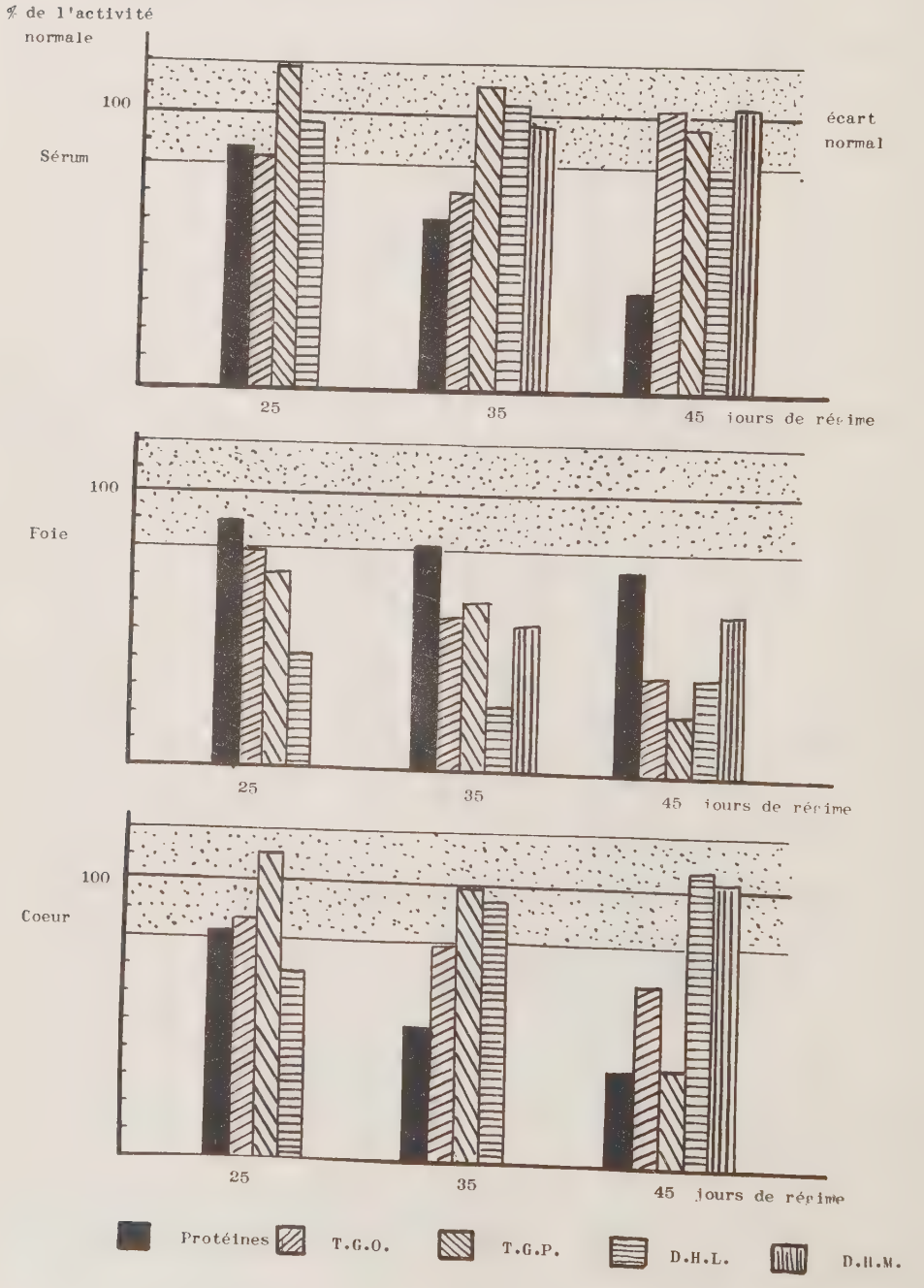
TABLEAU VI

Jours de régime	Protéines sériques gr. %	Activité enzymatique sérique U.S.W. TGO	TGP	DHL	DHM	Poids foie 100 gr. an. frais	Protéines hépatiques gr. %	Activité enzymatique hépatique U.S.W. TGO	TGP	DHL	DHM	Poids cœur 100 gr. an. frais	Protéines cardiaques gr. %	Activité enzymatique cardiaque U.S.W. TGO	TGP	DHL	DHM
Témoins	7,0	220	45	1250	1180	3,97	19,9	220.000	50.000	590.000	555.000	0,40	17,0	305.000	16.000	1.465.000	835.000
	±1,0	± 75	± 7	±150	±200	±0,06	±3,0	±50.000	±8.000	±100.000	±120.000	±0,05	±2,0	±50.000	±5.000	± 300.000	±200.000
25	6,2	180	52	1195	-	3,98	17,2	175.000	37.000	235.000	-	0,44	14,0	270.000	18.000	1.100.000	-
35	4,5	165	50	1330	1155	3,91	16,0	125.000	32.000	145.000	300.000	0,46	9,9	245.000	16.000	1.400.000	-
45	2,9	220	42	960	1255	3,94	14,8	71.000	10.000	210.000	350.000	0,40	6,9	205.000	6.500	1.600.000	870.000

Activités T.G.O.; T.G.P., D.H.L. et D.H.M. et protéines sériques, hépatiques et cardiaques au cours du jeûne protéique chez le rat

Figure 11

Evolution des taux de protéines totales et de l'activité fermentaire T.G.O., T.G.P., D.H.L. et D.H.M. au cours du jeûne protéique chez le rat



La diminution est identique dans le sérum et le coeur, où elle atteint 60% le 45ème jour; dans le foie l'abaissement n'atteint que 25% durant le même laps de temps.

A l'autopsie, on note des foies jaunâtres, et quelque fois - vers la fin surtout - de l'oedème. Ces symptômes concordent avec ceux observés par de nombreux cliniciens au cours des états de carence et relevés récemment par WATERLOW dans son étude du Kwashiorkor des enfants indigènes de la Jamaïque (161) et par GIRARDET et ses collaborateurs (59) dans l'hypoprotéinémie "essentielle".

Les déterminations de l'activité fermentaire T.G.O., T.G.P., D.H.L. et D.H.M. figurent dans le tableau VI. Dans la figure 11 ont été portées leurs variations par rapport à la normale.

Discussion des résultats.

Comparons les activités enzymatiques T.G.O., T.G.P., D.H.L. et D.H.M. des rats soumis au régime à celles des témoins.

Inchangée dans le sérum, l'activité diastasique est modifiée dans les organes.

Dans le foie, les transaminases baissent. La diminution atteint 20% le 25ème jour, 46 le 35ème et 65 le 45ème en ce qui concerne la T.G.O.. Pour la T.G.P., elle est de 28% le 25ème jour, 38 le 35ème et 80 le 45ème. L'appauvrissement en D.H.L. et D.H.M. est très net jusqu'au 35ème jour où il atteint 75% pour la première et 46% pour la seconde. Puis s'observe un regain d'activité.

WATERLOW (161) rapporte les activités des mêmes enzymes à l'acide désoxyribonucléique, constante cellulaire, propre au noyau et peu influencée par la dénutrition et les surcharges graisseuses (qui provoquent une hypertrophie de l'organe), étant donné qu'il n'y a pas de multiplication cellulaire. Il ne note aucune variation de l'activité fermentaire rapportée à cette constante au cours de la carence protéique des jeunes enfants atteints de Kwashiorkor.

Toutefois, dans les conditions de travail de WATERLOW, peut-on considérer l'A.D.N. comme une constante fixe du tissu ? Cet auteur admet d'ailleurs une variation de la teneur hépa-

tique en A.D.N. pendant la croissance de ces jeunes enfants : ce phénomène pourrait masquer pour une part la réduction de l'activité fermentaire hépatique.

GIRARDET et ses collaborateurs (59), dans leurs travaux sur l'hypoprotéinémie essentielle, rapportent l'activité des ferments hépatiques au ml d'homogénat non dilué et observent une baisse de l'activité enzymatique.

Il est certain que l'expression des résultats du dosage des enzymes tissulaires pose un problème délicat. Toutefois, dans les cas qui nous intéressent et où l'on assiste plutôt à une atrophie du foie, le taux des enzymes diminue en valeur absolue. Cette chute est consécutive au défaut de synthèse par suite de la carence en matériaux.

Cependant le défaut de synthèse est plus complexe puisqu'il ne s'observe pas dans tous les organes. Ainsi les variations du taux de l'activité enzymatique cardiaque n'affectent que les transaminases; la T.G.O. voit son activité réduite de 30%, la T.G.P. de 60%. La D.H.L., après une chute transitoire modérée, revient à la normale.

Nous ne pouvons expliquer ce phénomène que par une exaltation secondaire de l'élaboration des deshydrogénases dont le rôle est primordial dans le fonctionnement du coeur. Il y aurait adaptation de la synthèse diastasique aux conditions défavorables dans lesquelles nous avons placé nos animaux.

Cette hypothèse que nous appliquons au muscle cardiaque, a déjà été avancée par RYSER, FREI et BOREL qui ont observé une élévation des transaminases hépatiques chez le rat soumis au régime carné et y voient un bel exemple d'adaptation de l'activité enzymatique : les transaminases hépatiques jouant un rôle dans la dégradation de l'excès des substances alimentaires azotées (130).

La constance des taux enzymatiques sériques s'explique par l'absence de nécrose. On remarquera cependant que les enzymes du sérum ne subissent de diminution que durant les 45 jours qu'a duré l'expérience, s'opposant ainsi aux ferments tissulaires.

ACTIVITE DES TRANSAMINASES GLUTAMIQUE OXALOACETIQUE ET GLUTAMIQUE PYRUVIQUE ET DESHYDROGENASES LACTIQUE ET MALIQUE DANS LE SERUM ET LES TISSUS HEPATIQUE ET CARDIAQUE CHEZ LE RAT AU COURS DU JEUNE TOTAL

Nos expériences sur le jeûne protidique ont été complétées par la détermination des activités fermentaires T.G.O., T.G.P., D.H.L. et D.H.M. dans le sérum, et les tissus hépatique et cardiaque chez le rat au cours du jeûne total.

Conduite de l'expérience.

Dix rats sont soumis au jeûne total pendant dix jours. Ils ne reçoivent aucune nourriture, mais sont pourvus d'eau à volonté. Cinq sont alors sacrifiés; les cinq derniers sont réalimentés normalement pendant dix jours.

Résultats.

Les résultats moyens figurent dans le tableau VII et la figure 12.

Discussion des résultats.

En dix jours, le jeûne total entraîne une perte de poids corporel égale à la moitié du poids initial. Contre toute attente, l'activité fermentaire reste constante ou même s'élève dans le sérum et les tissus. Cette élévation est parallèle à l'augmentation des protéines totales tissulaires ou sériques.

On doit admettre que les organes involuant (leur poids tombe jusqu'à 30%), les protéines essentielles subsistent et parmi celles-ci les enzymes dont le taux relatif s'élève en même temps que celui des protéines totales.

Cependant, l'activité deshydrogénasique cardiaque reste constante.

Après une réalimentation normale, les organes reviennent à leur poids initial et les taux protéiques et activités enzymatiques reviennent à leurs valeurs physiologiques.

Au cours du jeûne total, les organes étudiés subissent une involution passagère qui ne touche pas les éléments es-

sentiels que sont les enzymes tissulaires et qui peut être facilement réparée, sans dommage, par une alimentation normale.

CONCLUSIONS

Au cours de nos expériences, l'évolution de l'activité des transaminases et des deshydrogénases est identique dans le sérum, mais semble différente dans les tissus, notamment le muscle cardiaque.

Dans l'hépatite expérimentale, où la lésion aiguë se double vraisemblablement d'un trouble de l'apport protéique et d'une mauvaise utilisation, l'activité fermentaire hépatique est fortement diminuée. Cependant la chute est exagérée lorsqu'on rapporte les résultats au gramme de tissu puisqu'il y a hypertrophie de l'organe. Une base de comparaison est difficile à trouver : en effet, la tyrosine protidique varie par suite du trouble du métabolisme des protéines, l'acide désoxyribonucléique à cause de la teneur en A.D.N. des cellules d'infiltration (159, 160). La diminution de l'activité des enzymes dans le foie est donc vraisemblable, mais difficile à chiffrer.

Le jeûne protidique entraîne une chute de l'activité des ferments tissulaires par suite du défaut de synthèse due à la carence d'apport en matériaux nécessaires. Là encore, l'usage d'une unité de comparaison invariable s'impose, car l'atrophie des tissus peut masquer en partie cette diminution si l'on exprime l'activité des diastases en unités spectrophotométriques Wroblewski, c'est-à-dire par gramme de tissu frais.

Enfin, en ce qui concerne le jeûne total, il y a élévation de l'activité tissulaire transaminasique et deshydrogénasique lorsqu'elle est rapportée au gramme. Cependant, celle-ci ne doit être qu'apparente et due à l'involution de l'organe : en effet, il est difficile d'imaginer que, sans apport exogène, l'organisme exalte la synthèse des diastases.

Dans ce dernier cas, il serait indiqué de comparer les activités fermentaires à l'A.D.N., surtout en ce qui concerne

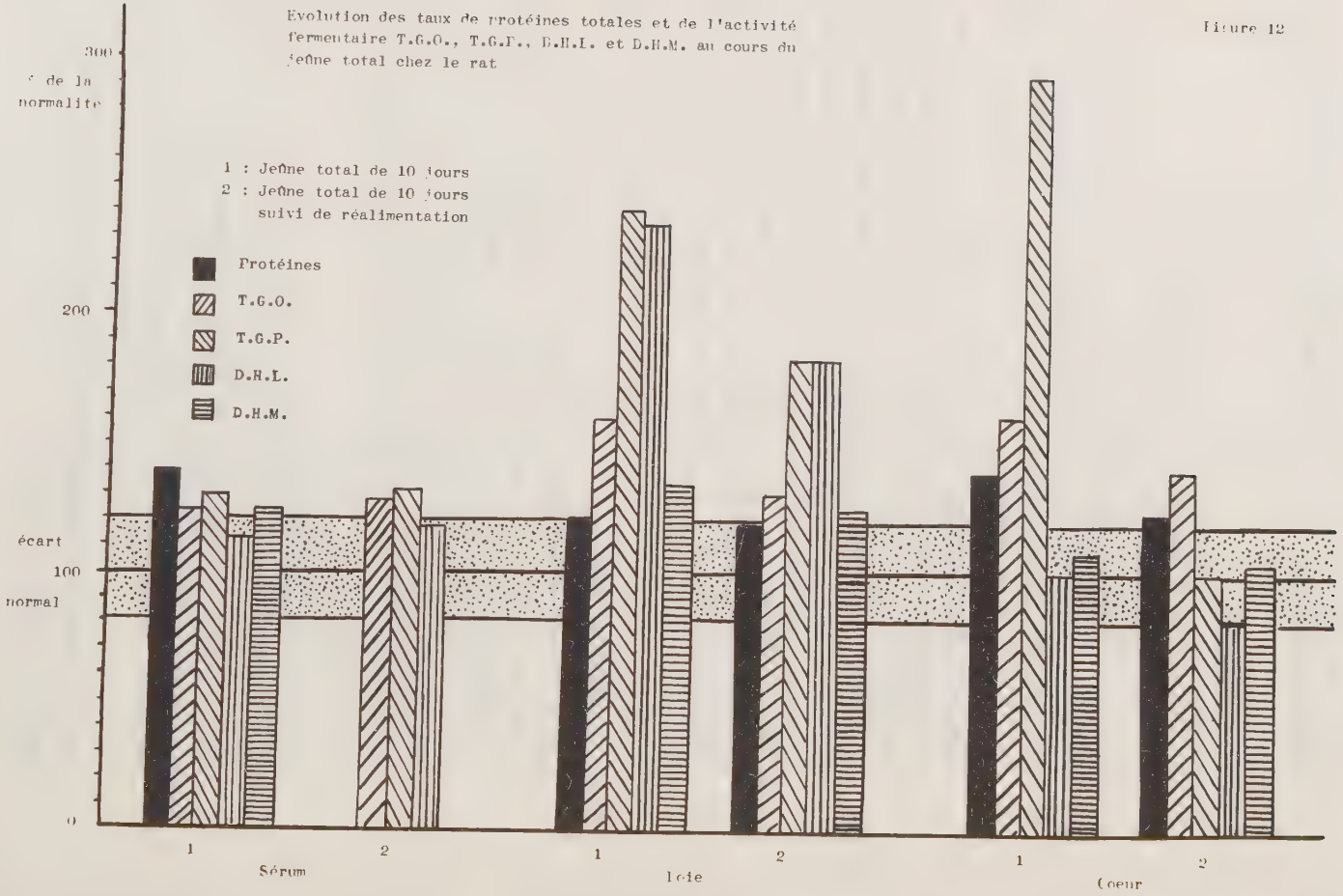
TABLEAU XVII

	Nombre d'animaux	Protéines sériques gr.%	Activité enzymatique sérique U.S.W.				Poids foie 100 gr. animal	Protéines hépatiques gr.%	Activité enzymatique hépatique U.S.W.				Poids coeur 100 gr. animal	Protéines cardiaques gr.	Activité enzymatique cardiaque U.S.W.			
			T.G.O.	T.G.P.	P.H.I.	P.H.M.			T.G.O.	T.G.P.	P.H.I.	P.H.M.			T.G.O.	T.G.P.	P.H.I.	P.H.M.
Témoins	10	7,0	220	45	1250	1180	3,76	19,0	220.000	50.000	580.000	555.000	0,40	17,0	305.000	16.000	1.465.000	835.000
		+ 1,0	±75	±7	±150	±200	±0,06	±3,0	±50.000	±8.000	±100000	±120.000	±0,05	±2,0	±50.000	±5.000	±300.000	±200.000
Réalimentés au 14ème jeûne	5	10,1	272	60	1464	1440	2,92	29,8	350.000	120000	1430000	720.000	0,37	24,5	468.000	47.000	1.500.000	900.000
	5	-	275	60	1480	-	3,00	23,7	280.000	60.000	1200000	680.000	0,41	23,5	419.000	16.000	1.270.000	870.000

Activité des T.G.O., T.G.P., P.H.I. et P.H.M. sériques, hépatiques
et cardiaques au cours du jeûne total chez le rat

Evolution des taux de protéines totales et de l'activité fermentaire T.G.O., T.G.P., D.H.L. et D.H.M. au cours du jeûne total chez le rat

Figure 12



l'activité deshydrogénasique du muscle cardiaque qui paraît constante, comme d'ailleurs au cours du jeûne protidique.

Des variations de l'activité fermentaire sérique ne se manifestent qu'au cours de nécroses tissulaires aiguës; c'est le cas de l'hépatite expérimentale. Les transaminases et deshydrogénases sériques sont constantes durant le jeûne protidique où la perméabilité cellulaire ne semble pas affectée. L'élévation au cours du jeûne total doit être due à une hémoconcentration.

Ainsi on observe des modifications de l'activité enzymatique des organes non seulement dans les atteintes cellulaires aiguës, mais encore dans les troubles d'apport. Ces modifications sont difficiles à chiffrer par manque d'un étalon cellulaire absolument constant (poids de l'organe, nombre de cellules, teneur en protéines, tyrosine protidique. A.D.N...)

CONCLUSIONS GENERALES

Apres avoir défini les transaminases et deshydrogénases et décrit les propriétés physico-chimiques, nous avons analysé les différentes méthodes d'évaluation de leur activité.

Notre choix s'est porté sur la méthode spectrophotométrique que nous avons pu facilement appliquer au sérum et aux tissus grâce à sa spécificité, sa rapidité et sa simplicité.

Nous avons obtenu un grand nombre de résultats tant des transaminases que des deshydrogénases dans les affections cardio-vasculaires et hépato-biliaires. Des élévations importantes du taux sérique de ces enzymes sont observés au cours des nécroses tissulaires, particulièrement hépatiques ou cardiaques. Sur ce point, nos résultats concordent avec ceux de nombreux auteurs.

La nécrose tissulaire entraîne une fuite des enzymes vers le sang circulant. De plus, la diminution considérable de certaines activités fermentaires doit être mise non seulement au compte de cette fuite tissulaire, mais encore à une perturbation de la synthèse propre de quelques-unes de ces diastases.

Dans les carences d'apport en protéines, les diminutions de l'activité fermentaire hépatique sont homogènes et importantes. Au contraire, le comportement des transaminases est différent de celui des deshydrogénases dans le muscle cardiaque. En effet, ces dernières, dont le rôle est primordial pour le fonctionnement de cet organe, sont peu affectées, même après un jeûne prolongé.

Enfin, après un jeûne total de dix jours, on observe des augmentations d'activité fermentaire importantes que nous avons attribuées à une involution partielle des organes consécutive à la mobilisation des réserves.

Ainsi, non seulement la nécrose, mais encore l'apport alimentaire joue un rôle certain dans l'élaboration des enzymes tissulaires étudiées.

B I B L I O G R A P H I E

1. AGRESS C.M. - *Evaluation of the transaminase test.* Am. J. Cardiol., 3 : 74 (1959).

2. AGRESS C.M., GLASSNER H.F., JACOBS H.I. - *Serum transaminase levels in experimental pulmonary infarction.* Circulation Res., 4 : 220 (1956).

3. AGRESS C.M., JACOBS H.I., GLASSNER H.F., LEDERER M.E., CLARK W.G., WROBLEWSKI F., KARMEN A., LA DUE J.S. *Serum transaminase levels in experimental myocardial infarction* Circulation, 11 : 711 (1955).

4. ALLGEN S.I., NAUCKHOFF B., ORDELL I., SALUM I., LZIKOWITZ S. *Serum diphosphopyridine nucleotide-linked enzymes in delirium tremens and allied conditions.* **Science**, 128 : 304 (1958).

5. AMELUNG D., HORN H.D. *Fermentaktivitäts-Bestimmungen im Serum beim Herzinfarkt.* Deutsche med. Wchnschr., 81 : 1701 (1956).

6. ANDERSSON B. *Uber Co-Zymaseaktivierung einiger Dehydrogenasen.* Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem., 217 : 186 (1933).

7. ANDERSSON B. *Die Co-Zymase als Co-Enzym bei enzymatischen Dehydrierungen.* Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., 225 : 57 (1934).

8. ARMENTROUT S.A. - *Adenine - transaminase.* Fed. Proc., 16 : 146 (1957).

9. ASPEN A.S., MEISTER A. - *Determination of transaminase.* Meth. biochem. Anal., 6 : 131 (1958).

10. BANG N.U. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in acute and chronic alcoholism.* J.A.M.A., 168 : 156 (1958).

11. BANG N.U., MADSEN S., IVERSEN K. - *Hepatitis and serum transaminase determination.* Nord.med., 58 : 1013 (1957).

12. BATELLI F., STERN L. - *Die Oxydation der Zitronen- Apfel- und Fumarsäure durch Tiergewebe.* Biochem. Ztschr., 31 : 478 (1911).

13. BING R.J., CASTELLANOS A., SIEGEL A. - *Diagnostic value of activity of malic dehydrogenase and phosphohexose isomerase*. J.A.M.A., 164 : 647 (1957).

14. BIORCK G., HANSON A. - *Glutamic oxaloacetic transaminase in the diagnosis of myocardial infarction*. Act. med. scandivaw., 155 : 317 (1956).

15. BISERTE G., GEORGE R. - *Les transaminases sériques : généralités sur les transaminases (définition, rôle, dosage, répartition)*. Lille Méd., 3 : 495 (1958).

16. BISERTE G., TACQUET A., GEORGE R., GUERRIN F. - *Les transaminases sériques au cours des affections hépatiques*. Lille Méd., 3 : 513 (1958).

17. BOIVIN P., BESSON R., HARTMANN L., FAUVERT R. - *Les transaminases du sérum en pathologie hépato-biliaire*. Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 4 : 349 (1959).

18. BONATI B., LACERENZA C., RANCATI G.B., TENCONI L.T. - *Studio comparativo sul comportamento della glutamico ossalacetico transaminasi serica ed epatica in svariate situazioni morbose e nel corso dello shock chirurgico*. Minerva Med., 47 : 267 (1956).

19. BRAUNSTEIN A.E., KRITZMANN M.G. - *Uber den Ab- und Aufbau von Aminosäuren durch Umaminierung*. Enzymologia, 2 : 129 (1937).

20. BRENT R.L., MC LAUGHIN M.M., STABILE J.N. - *The effect of irradiation on the serum glutamic oxaloacetic transaminase level*. Radiation Res., 9 : 24 (1958).

21. BRUYET P., DELAUNAY A., MEIGNIEN-GAUTHIER CH. - *Les transaminases en biologie*. Presse méd., 66 : 2011 (1958).

22. BRUYET P., MEIGNIEN-GAUTHIER CH., DELAUNAY A. - *Les transaminases sériques et leur intérêt clinique, dans les affections cardiaques et hépatiques*. Presse méd., 66 : 2113 (1958).

23. BUCHER TH., KLINGENBERG M. - *Wege des Wasserstoffs in der lebendigen Organisation*. Angew. Chemie, 70 : 552 (1958).

24. CABAUD P., LEEPER R., WROBLEWSKI F. - *Colorimetric measurement of serum glutamic oxaloacetic transaminase*. Am. J. Clin. Path., 26 : 1101 (1956).

25. CALIFANO G., TERAMO A., SCHIANO S. - *Ricerche sull' attività fortatasica del siero dopa interruzione del coledoco, epatectomia parziale e totale e sul contenuto in glicogeno e fortatasi nel tessuto epatico in segnito a sezione del coledoco.* Athena, 3 (1958).

26. CAMMARATA P.S., COHEN P.P. - *The scope of the transamination reaction in animal tissues.* J. Biol. Chem., 187 : 439 (1950).

27. CAMMARATA P.S., COHEN P.P. - *Spectrophotometric measurement of transamination reactions.* J. Biol. Chem., 193 : 45 (1951).

28. CANDURA F., TIMOSI G. - *Behavior of blood glutamic oxaloacetic transaminase in patients exposed to X - ray therapy.* Progr. Med. Nap., 13 : 265 (1957).

29. CHINSKY M., SHMAGRANOFF G.L., SHERRY S. - *Serum transaminase activity : observations in a large group of patients.* J. Lab. Clin. Med., 47 : 108 (1956).

30. CHINSKY M., WOLFF R.J., SHERRY S. - *Serum transaminase activity : a comparison of the pyruvic and oxaloacetic transaminases.* Am. J. M. Sc., 233 : 400 (1957).

31. COHEN P.P. - *Kinetics of transaminase activity.* J. Biol. Chem., 136 : 585 (1940).

32. COHEN P.P., HEKHUIS G.L. - *Transamination with purified enzyme preparation (transaminase).* J. Biol. Chem., 136: 565 (1940).

33. COHEN P.P., HEKHUIS G.L. - *Transamination in tumors, foetal tissues and regenerating liver.* Canver Res., 1 : 620 (1941).

34. COHEN P.P., HEKHUIS G.L. - *Rate of transamination in normal tissues.* J. Biol. Chem., 140 : 711 (1941).

35. CONRAD F.G. - *Transaminase.* New England J. Med., 256 : 602 (1957).

36. COURTOIS J.E. - *Le dosage des enzymes en chimie biologique.* Ann. Biol. Clin., 17 : 551 (1959).

37. CRAVER W.L., JOHNSON G. JR., BEAL J.M. - *Alterations in serum glutamic oxaloacetic transaminase activity following operations.* S. Forum, 8 : 77 (1957)

38. D'ABBICCO V., TULLIO A.D. - *Varation of the serum aminopherase (transaminase) activities in surgical patients* J.A.M.A., 169 : 77 (1959).

39. DARLING S. - *2ème Congrès Internat. Biochimie* - Résumé des Communications 304 (Paris 1952).

40. DELBRÜCK A., SCHIMASSEK H., BARTSCH K., BÜCHER Th. *Enzym- Verteilungsmuster in einigen Organen und in experimentellen Tumoren der Ratte und der Maus.* Biochem. Ztschr., 331 : 297 (1959).

41. DENNEY J.L., MC AULEY C.B., MARTIN H.E., WARE A.C., SHGALOVE M. - *Evaluation of the serum glutamic oxaloacetic aminopherase (transaminase) test.* J.A.M.A., 161 : 614 (1956).

42. DE RITIS F., COLTORTI M., GIUSTI. - *Ulteriore contribute al valore diagnostico ed al significato patogenetico delle modificazioni delle attività transaminasiche del siero nella epatite virale.* Minerva Med., 47 :167 (1956)

43. DE RITIS F.,-COLTORTI M., GIUSTI G. - *Serum and liver transaminase activities in experimental virus hepatitis in mice.* Science, 124 : 32 (1956).

44. DE RITIS F., COLTORTI M., GIUSTI G. - *An enzymic test for the diagnostis of viral hepatitis : the transaminase serum activities.* Clin. Chim. Act., 2 : 70 (1957).

45. DONATO R.A. - *Transaminase activity and morphologic al - terations in human livers.* Am. J. Clin. Path., 28 : 377 (1957).

46. DUBACH U.C. - *Die Glutaminsäure-Oxalessigsäure-Transaminase in ihrer diagnostischen Bedeutung.* Ztschr. klin . Med., 154 : 593 (1957).

47. DUBACH U.C. - *Un test fermentaire simple pour diagnostiquer l'infarctus du myocarde.* Triangle 3, 6 : 234(1958)

48. DUNN M., MARTINS J., REISSMANN K.R. - *The disappearance rate of glutamic oxaloacetic transaminase from the circulation and its distribution in the body's fluid compartments and secretions.* J. Lab. Clin. Med., 51 : 259 (1958).

49. DU TOIT C.H. - *Usefulness of serum transaminase determinations in diagnosis of myocardial infarction.* Proc. New England Cardiovas. Soc., 14 : 36 (1955/56).

50. DE VINCENTIIS E., TERAMO A. - *Studio comparativo fra i valori delle transaminasi sieriche dopo interruzione dei dotti biliari a vari levelli (ricerche sperimentali).* Gior. ital. Chir., 14, 9 : (1958).

51. EDSON N.L. - *Ketogenesis-Antiketogenesis The influence of ammonium chloride on ketone - body formation in liver.* Biochem. J., 29 : 2082 (1935).

52. FELDMANN L.I., GUNSALUS I.C.- *The occurence of a wide variety of transaminases in bacteria.* J. Biol. Chem., 187 : 821 (1950).

53. FERRARI V. - *Variazioni dell'attività transaminasica del siero nelle epatopatie umane : reperti clinici e meccanismo patogenetico.* Arch. sc. Med., 104 : 176 (1957).

54. FLEISCHER G.A., WAKIM K.G. - *Transaminase in canine serum and cerebrospinal fluid after carbon tetrachloride poisoning and injection of transaminase concentrates.* Proc. Staff. Meet., Mayo Clin., 31 : 640 (1956).

55. FLEISCHER G.A., WAKIN K.G., GOLDSTEIN N.P. - *Glutamic oxaloacetic transaminase and lactic dehydrogenase in serum and cerebrospinal fluid of patients with neurological disorders.* Proc. Staff. Meet., Mayo Clin., 32 : 188 (1957).

56. FRANKL H.D. - *Toxic vapor inhalation and serum enzyme levels.* Texas Rep. Biol. Med., 15 : 868 (1957).

57. FRIEND C., WROBLEWSKY F., LA DUE J.S. - *Glutamic oxaloacetic transaminase activity of serum in mice with viral hepatitis.* J. Exper. Med., 102 : 699 (1955).

58. GIBSON D.M., DAVISSON E.O., BACHHAWAT B.K., RAY B.R., VESTLING C.S. - *Rat liver lactic dehydrogenase.* J.Biol. Chem., 203 : 397 (1953).

59. GIRARDET P., FREI J., GRANDGUILLAUME P., BOREL Cl., DORTA T. - *Activité enzymatique et hyperaminoacidémie provoquée dans un cas d'hypoprotéinémie dite essentielle.* J. Suisse Méd., 88 : 1284 (1958).

60. GOLDNER F., MEADOR C. - *Transaminase and c-reactive protein levels in acute myocardial infarction : evaluation of indices of necrosis.* South. M.J., 48 : 1339 (1955).

61. GOLDSTEIN F., ISRAEL H.L., SELIGSON D. - *Use of serum transaminase levels in the differentiation of pulmonary embolism and myocardial infarction.* New England J.Med., 254 : 747 (1956).

62. GONNARD P., NGUYEN-PHILLIPON C. - *Dosage manométrique de la transaminase glutamique aspartique sérique.* Ann. Biol. Clin., 17 : 206 (1959).

63. GREEN D.E., LELOIR L.F., NOCITO V. - *Transaminases.* J. Biol. Chem., 161 : 559 (1945).

64. HANSON A., BIÖRCK G. - *Glutamic oxaloacetic transaminase in the diagnosis of myocardial infarction. Comparison of serum transaminase activity with determinations of serum aldolase, cholesterol, α2-globulin, iron, copper and lactic dehydrogenase.* Acta Med. Scandinav., 157 : 493 (1957).

65. HENLEY K.S., WIGGINS H.S., POLLARD H.M. - *The effect of oral ethanol on the hepatic glutamic pyruvic transaminase activity in the rat.* J. Clin. Invest., 35 : 710 (1956).

66. HENNEMANN H.H., KLAUS D. - *Uber Fermentaktivitäts-Bestimmungen im Serum beim kongenitalen und erworbenen hämolytischen Ikterus.* Klin. Wchnschr., 36 : 516 (1958).

67. HESS B. - *Uber Fermente der Glykolyse und des Zitronensäurecyclus im menschlichen Serum, insbesondere bei Erkrankungen der Leber.* Verhandl. deutsch. Gesellsch. inn. Med. 63 : 541 (1957) Kongress Wiesbaden vom 28. 4. bis 2. 5. 1957.

68. HESS B., GEHM E. - *Uber die Milchsäuredehydrogenase im menschlichen Serum.* Klin. Wchnschr., 31 : 91 (1955).

69. HESS B., RAFTOPOULO R. - *Uber die Apfelsäuredehydrogenase im menschlichen Serum, im Liquor cerebrospinalis und anderen Körperflüssigkeiten.* Deutsch. Arch. Klin. Med., 204 : 97 (1957).

70. HOEVENAARS H.A.M., OVERHOLT B.M. - *The clinical evaluation of serum glutamic oxaloacetic transaminase activity.* J. Tennessee M.A., 50 : 95 (1957).

71. HOFFMANN - OSTENHOF - *Enzymologie* (1954).

72. HORN H.D., AMELUNG D. - *Die Bedeutung von Transaminasen- und Milchsäure- Dehydrogenase-Bestimmungen im Serum bei Lebererkrankungen.* Deutsche Med. Wchnschr., 82 : 619 (1957).

73. IVERSEN K., BANG N., MADSEN S. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase in patients with heart disease with special reference to acute coronary occlusion.* Ugesk. laeger, 119 : 239 (1957).

74. JENNINGS R.B., KALTENBACH J.P., SMETTERS G.W. - *Enzymatic changes in acute myocardial ischemic injury.* A.M.A. Arch. Path., 64 : 10 (1957).

75. JUNGNER G. - *On the activity of electrophoretic components of glutamic oxaloacetic transaminase in human serum.* Scandinav. J. Clin. Lab. Invest. 10, suppl. 31 : 280 (1958).

76. JUNKER F. - *Die klinische Bedeutung des Transaminase-Tests für die Früherkennung des Herzinfarkts.* Therap. Monat., Mannheim, 1 : 6 (1957).

77. KALTENBACH J.P., BECKER J.F., BERNSTEIN I. - *Simplified spectrophotometric assay of serum glutamic oxaloacetic transaminase and lactic dehydrogenase.* Am. J. Clin. Path., 27 : 309 (1957).

78. KARMEN A., WROBLEWSKI F. - *Quantitative estimation of glutamic oxaloacetic transaminase activity in human serum.* Clin. Res. Proc., 1 : 90 (1953).

79. KARMEN A., WROBLEWSKI F., LA DUE J.S., - *Transaminase activity in human blood.* J. Clin.Invest., 34 : 126 (1955)

80. KARRER P., SCHWARZENBACH G., BENZ F., SOLMSSEN U. - *Uber Reduktionsprodukte des Nicotinsäure-amid-jodmethylats.* Helvet. Chim. Acta., 19 : 811 (1936).

81. KATTUS A.A.Jr., WATANABE R., SEMENSON C., DRELL W. AGRESS C.M. - *Serum aminopherase (transaminase) in the diagnosis of acute myocardial infarction.* J.A.M.A., 160 : 16 (1956)

82. KATTUS A.A.Jr., WATANABE R., SEMENSON C. - *Diagnostic and pronostic significance of serum transaminase levels in coronary occlusive disease.* Circulation, 15 : 502(1957)

83. KESSLER G., HERMEL M.B., GERSHON-COHEN J. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity after whole body irradiation.* Proc. Soc. Expec. Biol. Med., 98 : 201 (1958).

84. KESSLER G., PHELPS A. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase.* J. Albert Einstein M. Center, 4 : 91 (1956).

85. KRAUSE S., KRAUSE G. - *Serum glutamic oxaloacetic aminopherase (transaminase) determinations : value in the diagnosis of acute myocardial infarction in the presence of left bundlebranch block.* J.A.M.A., 161 : 144 (1956).

86. KRITZMANN M.G., SAMARINA A. - Cité par HOFFMANN-OSTENHOF, *Enzymologie : 407* (1954).

87. KUBOWITZ F., OTT P. - *Isolierung und Kristallisation eines Gärungsfermentes aus Tumoren.* Biochem. Ztschr., 314 : 94 (1943).

88. LA DUE J.S., WROBLEWSKI F. - *The significance of the serum glutamic oxaloacetic transaminase activity following acute myocardial infarction.* Circulation, 11 : 871 (1955).

89. LA DUE J.S., WROBLEWSKI F., KARMEN A. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction.* Science, 120 : 497 (1954)

90. LA DUE J.S., WROBLEWSKI F., NYDICK I. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity as an index of acute myocardial damage.* Mod. Concepts Cardiovas.Dis., 25 : 333 (1956).

91. LAURSEN T., ESPERSEN G.A. - *A fluorimetric method for measuring the activity in serum of the glutamic oxaloacetic transaminase.* Scandinav. J. Clin. Lab.invest. 11 : 61 (1959).

92. LAURSEN T., HANSEN P. - *A fluorimetric method for measuring the activity in serum of the glutamic-pyruvic transaminase.* Scandinav.J.Clin.Lab.Invest.,10 : 53 (1958).

93. LICHSTEIN H.C., GUNSALUS I.C., UMBREIT W.W. - cités par HOFFMANN-OSTENHOF, *Enzymologie* : 403 (1954).

94. LOSNER S., VOLK B., ARONSON S. - *Diagnostic aïds in acute myocardial infarction*. Am. Heart J. 54 : 225 (1957).

95. MADSEN S., BANG N.U., IVERSEN K. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase in diseases of the liver and biliary tract*. Brit. M. J., 1 : 543 (1958).

96. MANSO C., TARANTA A., NYDICK I. - *Effect of aspirin administration on serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases in children*. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 93 : 81 (1956).

97. MC HARDY R.J., STOTLER J.B., MAC HARDY G. - *Clinical evaluation of serum transaminase levels in myocardial infarction*. South. M. J., 48 : 1347 (1955).

98. MEISTER A. - *Enzymatic preparation of α-ketoacids*. J. Biol. Chem., 197 : 309 (1952).

99. MEISTER A., FRASER P.E. - *Enzymatic formation of l-asparagine by transamination*. J. Biol. Chem., 210 : 37 (1954).

100. MEHLER D.M., KORNBERG A., GRISOLIA S. *The enzymatic mechanism of oxidation-reduction between malate or isocitrate and pyruvate*. J. Biol. Chem., 174 :961 (1948).

101. MERRILL J.M., LEMLEY-STONE J., GRACE J.I.. MENEELY G.R.- *Decreased activity of glutamic oxaloacetic transaminase in infarcted myocardial tissues of the dog*. Clin. Res. Proc., 3 : 113 (1955).

102. MERRILL J.M., LEMLEY-STONE J., GRACE J.I., MENEELY G.R.- *Recent clinical experimences with serum aminopherase (transaminase) determinations*. J.A.M.A., 160 : 1454 (1956).

103. MEYERHOF O. - *Uber die Atmung der Froschmuskulatur*. Pflüger's Arch. ges. Physiol., 175 : 20 (1919).

104. MEYERHOF O., LOHMANN K. - *Uber Atmung und Kohlehydratumsatz tierischer Gewebe : über den Unterschied von d-*

und l- Milchsäure für Atmung und Kohlehydratsynthese im Organismus. Biochem. Ztschr., 171 : 421 (1926)

105. MILCH L.J., ALBAUM H.G. - *Serum transaminase activity in x- irradiated rabbits*. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 93 : 595 (1956).

106. MOLANDER D.W., WROBLEWSKI F., LA DUE J.S. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase as an index of hepatocellular integrity*. J. Lab. Clin. Med., 46 : 831(1955)

107. MOORE C.B., BIRCHALL R., HORACK H.M., BATSON H.M. - *Changes in serum glutamic oxaloacetic transaminase in patients with diseases of the heart, liver or musculoskeletal systems*. Am. J. M. Sc., 234 : 528 (1957).

108. MOSSBERG S.M., BLOOM A., BERKOWITZ J., ROSS G. - *Effect of morphine on the serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) and serum alkaline phosphatase (SAP) activities of normal persons and those with gallbladder disease*. Circulation, 18 : 761 (1958).

109. NEEDHAM D.M. - *A quantitative study of succinic acid in muscle-glutamic and aspartic acids as precursors*. Biochem. J., 24 : 208 (1930).

110. NISONOFF A., HENRY S.S., BARNES F.N. - *Mechanisms in enzymatic transamination : variables in the spectrophotometric estimation of glutamic aspartate kinetics*. J. Biol. Chem., 199 : 699 (1952).

111. NYDICK I., WROBLEWSKI F., LA DUE J.S. - *Evidence for increased serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) activity following graded myocardial infarcts in dogs*. Circulation, 12 : 161 (1955).

112. O'KANE D.E., GUNSALUS I.C. - *The resolution and purification of glutamic aspartic transaminase*. J. Biol. Chem., 170 : 425 (1947).

113. ORDELL R. - *Serum malic dehydrogenase estimation and clinical significance*. Scandinav. J.Clin. Lab. Invest. 10, Suppl. 31 : 296 (1957) Internat. Congress Clin. Chem., Stockholm 19-23.8.1957.

114. OSTERN P. - *Methode zur Bestimmung von Oxalessigsäure*. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., 218 : 160 (1933).

115. OSTROW B.H., STEINBERG D., TICKTIN H.E., POLIS G.N., EVANS J.M. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase in coronary artery disease.* Circulation, 14 :790 (1956).

116. PAGET M. - *De l'intérêt de l'évaluation de l'activité transaminasique du serum en pathologie hépato-biliaire* Ann. Biol. Clin., 15 : 650 (1957).

117. PAGET M. - *Les SGO et SGP transaminases en pathologie.* Ann. Biol. Clin., 16 : 408 (1958).

118. PARE C.M.B., SANDLER M. - *Acute hepatic necrosis following iproniadie therapy value of glutamic oxaloacetic transaminase estimation in early detection.* Lancet, 1 : 282 (1959).

119. PEARCE J.M., PREUSS J.W. - *Serum transaminase changes in rabbits with cardiac lesions produced by virus III.* Lab. Invest., 5 : 145 (1956).

120. PERSON D.A., JUDGE R.D. - *Effect of operation on serum transaminase levels.* Arch. Surg. (Chicago), 77 : 892 (1958).

121. POLONOVSKI M. - *Traité de biochimie médicale* (1952).

122. PRYSE-DAVIES J., WILKINSON J.H. - *Diagnostic value of serum transaminase activity in hepatic and gastro-intestinal diseases.* Lancet, 1 : 1249 (1958).

123. PULMAN M.E., SAN PIETRO A., COLOWICK S.P. - *On the structure of reduced dipjosphopyridine nucleotide.* J. Biol. Chem., 206 : 129 (1954).

124. RATNER J.T., SACKS H.J. - *Transaminase in coronary artery disease.* Canad. M.A.J., 76 : 720 (1957).

125. REITMAN S., FRANKEL S. - *A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases.* Am. J. Clin. Path., 28 : 56 (1957).

126. RUDOLPH L.A., LYONS R.H. - *Glutamic oxaloacetic transaminase levels in acute myocardial infarcts in humans* Clin. Res. Proc., 3 : 113 (1955).

127. RUDOLPH K.A., SCHAEFFER J.S. - *Serum glutamic oxaloace-*

tic transaminase in experimental tissue injury. J.Lab. Clin. Med., 49 : 31 (1957).

128. RUEGSEGGER P., NYDICK I., WROBLEWSKI F., LA DUE J.S. - *Alterations in serum glutamic oxaloacetic transaminase serum glutamic pyruvic transaminase and lactic dehydrogenase following experimental myocardial infarction* Clin. Rec. Proc., 4 : 101 (1956).

129. RYSER M., FREI J. - *Mesures enzymatiques directes au niveau du foie humain normal et pathologique.* Helvet. Physiol. Acta, 14 : 77 (1957).

130. RYSER M., FREI J., BOREL Ch. - *L'élévation des deux transaminases hépatiques considérée comme adaptation enzymatique du rat au régime carné.* J. Suisse méd., 88 : 135 (1958).

131. RYSER M., FREI J., MAGNENAT P. - *Nouvelles possibilités d'études enzymatiques directes au niveau du foie humain : mesure de l'oxydation phosphorylante dans la cirrhose.* Helvet. Med. Acat., 24 : 491 (1957).

132. SAMPSON I.J. - *Serum transaminase and other enzymes in acute myocardial infarction.* Progr. Cardiovas. Dis., 1 : 187 (1958).

133. SCHLENK F., FISHER A. - cités par HOFFMANN-OSTENHOF, *Enzymologie : 404 (1954).*

134. SCHLENK F., SNELL E.E. - cités par HOFFMANN-OSTENHOF *Enzymologie*, : 403 (1954).

135. SCHMIDT E., SCHMIDT F.W., WILDHIRT E. - *Vergleichende Aktivitäts-Bestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in der menschlichen und in der Rattenleber.* Klin. Wshschr., 36 : 172 (1958).

136. SCHMIDT E., SCHMIDT F.W., WILDHIRT E. - *Aktivitäts-Bestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in der menschlichen Leber bei der akuten hepatitis und ihren Ausheilungszuständen.* Klin. Wchschr. 36 : 227 (1958).

137. SCHMIDT E., SCHMIDT F.W., WILDHIRT E. - *Aktivitäts-Bestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels im menschlichen Serum und in Leberpunktaten*

bei Lebererkrankungen. Klin. Wchschr., 36 : 280 (1958).

138. SCHMIDT E., SCHMIDT F.W., WILDHIRT E. - *Aktivitäts-Bestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoff - wechsels bei chronischen Leber-Entzündungen*. Klin. Wchschr., 36 : 611 (1958).

139. SHABETAI R., IGLAUER A., ANDERSON D.M. *Serum transaminase determinations as a diagnostic aid in myocardial infarction*. Brit. M.J., 1 : 555 (1957).

140. SHAY M., SIPLET H. - *Study of chlorpromazine jaundice ; its mechanisme and prevention; special reference to serum alkaline phosphatase and glutamic oxaloacetic transaminase*. Gastroenterology, 32 : 571 (1957).

141. SIEGEL A., BING P.J. - *Plasma enzyme activity in myocardial infarction in dog and man*. Proc. Soc. Exp. Biol.N. Y.; 91 : 604 (1956).

142. SIEKIERT R.E., FLEISCHER G.A. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase in certain neurologic and neuromuscular diseases*. Proc. Staff. Meet., Mayo Clin., 31 : 459 (1956)

143. STEINBERG D., OSTROW B.H. - *Serum transaminase as a measure of myocardial necrosis*. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 89 : 31 (1955).

144. STRAUB F.B. - *Crystalline lactic dehydrogenase from heart muscle*. Biochem., J., 34 : 483 (1940).

145. STRAUB F.B. - cité par HOFFMANN-OSTENHOF, *Enzymologie* : 484 (1954).

146. SZENT GYORGYI A. - *Zellatmung : der Oxydationsmechanismus der Milchsäure*. Biochem. Ztschr., 157 : 50 (1925).

147. TERROINE E.F. - *La répartition des représentants urinaires du métabolisme azoté et sa signification physiologique. Les règles fondamentales de l'étude du catabolisme azoté*. Bull. Soc. Chim. Biol., 18 : 665 (1936).

148. THEORELL H. - *DPN⇌DPNH systems and their applications in clinical chemestry; analytical procedures based on DPN-linked enzyme systems*. Scandinav. J. Clin. Lab. Invest. 10, Suppl 31 : 191 (1957). Internat. Congress Clin. chem , Stockholm 19-23. 8. 1957.

149. THUNBERG T. - *Studien über die Beeinflussung des Gasaustausches des Uberlebenden Froschmuskels durch verschiedene stoffe.* Skand. Arch. Physiol., 24 : 23 (1910).

150. TONHAZY N.E., WHITE N.G., UMBREIT W.W. - *A rapid method for the estimation of the glutamic aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness.* Arch. Biochem., 28 : 36 (1950).

151. UMBREIT W.W., RAHWAY N.J., KINGSLEY G.R., SCHAFFERT A. B., SIPLET H. - *A colorimetric method for transaminase in serum or plasma.* J.Lab.Clin.Med., 49 : 454 (1957).

152. VENNESLAND B., WESTHEIMER F.H. - *Hydrogen transport and steric specificity in reactions catalyzed by pyridine nucleotide dehydrogenases in Mc Ehoy and glass. A symposium on the mechanismeof enzyme action.* The Johns Hopkins Press, Baltimore : 357 (1954).

153. VESELL E.S., BEARN A.G. - *The heterogeneity of malic and lactic dehydrogenase.* Ann. New York Acad. Sc., 75 :286 (1958).

154. VON EULER H. - *Zur Biochemie der Tumoren : Enzymsystem im Jensen-Sarkom.* Ztschr.Krebsforsch., 49 : 46 (1939).

155. WACKER W.E.C., ULMER D.D., VALLEE B.L. - *Metalloenzymes and myocardial infarction; malic and lactic dehydrogenase activities and zinc concentrations in serum.* New England J.M., 255 : 449 (1956).

156. WALDMANN R.K., BORMAN E.K. - *A note on serum transaminase activity after lead absorption.* Arch. Indust.Health 19 : 431 (1959).

157. WARBURG O., CHRISTIAN W. - *Pyridin, der Wasserstoffübertragende Bestandteil von Gärungsfermenten (Pyridin-Nucleotide).* Biochem. Ztschr., 287 : 291 (1936).

158. WARTER J., ASCH L., ARON Cl. - *Fonctions thyréotrope et gonadotrope préhypophysaires au cours du jeûne protidique chez le rat.* Rev.Fr.Et.Clin.Biol., 6:568 (1959)

159. WARTER J., MANDEL P., METAIS P., TOUILLIER J. - *Sur une relation possible entre l'hypoalbuminerie et la teneur du foie en acide ribonucléique au cours des hépatites.* Congrès franç, Méd. Genève 1949 : 110

160. WARTER J., MANDEL P., METAIS P., TOUILLIER J. - *Les acides nucléiques du foie au cours des cirrhoses humaines et expérimentales.* Presse Méd., 58 : 1346 (1950).

161. WATERLOW J.C. - *L'étude des enzymes hépatiques chez l'homme.* Exp.Ann.Biochim.Méd., 21 : 17 (1959).

162. WEST A., ZIMMERMANN H.J. - *Serum enzymes in hepatic diseases* Med.Clin. North Amer., 43 : 371 (1959).

163. WHITE L.P. - *Serum enzymes.* New England J.M., 255 : 984 (1956).

164. WOOD J.E. Jr., ATUK N.O., CAMP J.L., BECKWITH J.R., LAURANCE P.B. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase and lactic dehydrogenase levels and their clinical significance.* Northwest Med., 57 : 1447 (1958).

165. WROBLEWSKI F. - *Clinical significance of serum enzyme alterations associated with myocardial infarction.* Am. Heart.J., 54 : 219 (1957).

166. WROBLEWSKI F. - *The clinical significance of lactic dehydrogenase activity in the milieu intérieur.* Scandinav. J. Clin. Lab. Invest., 10, suppl. 31 :230 (1957). Internat. Congress Clin. Chem., Stockholm, 19-23. 8. 1957.

167. WROBLEWSKI F. - *The clinical significance of transaminase activities of serum.* Am.J.Med., 27 : 911 (1959).

168. WROBLEWSKI F., CABAUD P. - *Colorimetric measurement of serum glutamic pyruvic transaminase.* Am.J.Clin.Path., 27 : 235 (1957).

169. WROBLFWSKI F., JERVIS G., LA DUE J.S. - *The diagnostic, pronostic and epidemiologie significance of serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) alterations in acute hepatitis.* Ann.Int.Med., 45 : 782 (1956).

170. WROBLEWSKI F., LA DUE J.S. - *Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity as an index of liver cell injury: a preliminary report.* Ann. Int. Med., 43 : 345 (1955).

171. WROBLEWSKI F., LA DUE J.S., - *Serum glutamic oxaloacetic transaminqse activity as an index of liver cell injury from cancer : a preliminary report.* Canver, 8 : 1155 (1955).

172. WROBLEWSKI F., LA DUE J.S.- *Serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) in hepatic disease : a preliminary study.* Ann. Int. Med., 45 : 801 (1956).

173. WROBLEWSKI F., LA DUE J.S. - *Serum glutamic oxaloacetic aminopherase (trasaminase) in hepatitis.* J.A.M.A., 160 : 1130 (1956).

174. WROBLEWSKI F., LA DUE J.S.,- *Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac and hepatic diseases.* Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 91 : 569 (1956).

175. WROBLEWSKI F., MANSO C. - *Effects of certain anticoagulants on serum enzyme activity.* J.A.M.A., 167 : 2163 (1958).

176. WROBLEWSKI F., RUEGSEGGER P., LA DUE J.S. - *Serum lactic dehydrogenase activity in acute transmural myocardial infarction.* Science, 123 : 1122 (1956).

Vu, Strasbourg, le 11 Juillet 1960

Le Président du Jury,

P. CORDIER.

Vu et approuvé :

Strasbourg, le 15 Juillet 1960

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie

P. DUQUENOIS

Vu et permis d'imprimer :

Strasbourg, le 21 Juillet 1960.

Le Recteur de l'Académie
Président du Conseil de l'Université

J.F. ANGELLOZ

- Activités enzymatiques transaminasiques et deshydrogénasiques dans l'infarctus du myocarde 45
Données générales 45
Observations expérimentales 46
Observations cliniques 48
Recherches personnelles 49
- Activités enzymatiques transaminasiques et deshydrogénasiques dans les affections cardio-vasculaires sans lésion musculaire 53
Angine de poitrine 53
Péricardite et myocardite 53
Rhumatisme articulaire aigû 54
- Activité fermentaire dans les accidents vasculaires cérébraux 54
- Activité diastasique dans les accidents vasculaires pulmonaires 54

CHAPITRE II : Transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique et deshydrogénases lactique et malique en pathologie hépato-biliaire 57
- Données générales 57
- Observations expérimentales 57
Hépatites toxiques 58
Hépatites virales 58
Action de l'alcool sur les transaminases hépatiques 59
- Observations cliniques 59
Hépatites toxiques 59
Hépatites infectueuses 59
Cirrhoses 63
Cancers du foie 65
Ictères par obstruction 66

TROISIEME PARTIE :
Etude expérimentale : Transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique et deshydrogénases lactique et malique dans le sérum et les tissus du rat 69

CHAPITRE I : Activité des transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique et deshydrogénases (lactique et malique) dans le serum et le parenchyme hépatique du rat présentant une hépatite experimentale par inhalation de tetrachlorure de carbone 70

- Conduite de l'expérience 70
- Résultats 71
- Discussion des résultats 71

CHAPITRE II : Activité des transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique et deshydrogénases (lactique et malique) dans le sérum et les tissus cardiaque et hépatique du rat au cours du jeûne protidique 75
- Conduite de l'expérience 75
- Résultats 75
- Discussion des résultats 79

CHAPITRE III : Activité des transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique et deshydrogénases (lactique et malique) dans le sérum et les tissus hépatique et cardiaque chez le rat au cours du jeûne total 81
- Conduite de l'expérience 81
- Résultats 81
- Discussion des résultats 81

CONCLUSIONS 82

CONCLUSIONS GENERALES 87

BIBLIOGRAPHIE 89

TABLE DES MATIERES 107